UNIVERSITÉ D'ALGER
FACULTÉ MIXTE DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE D'ALGER

ANNÉE 1923 — N° 2

CONTRIBUTION

à

L'EXPERTISE DES LAITS COAGULÉS

THÈSE

POUR

LE DOCTORAT DE L'UNIVERSITÉ D'ALGER

(Mention Pharmacie)

présentée et soutenue publiquement le 28 Mai 1923

PAR

M. BANCE ERNEST-JEAN-HENRI

Pharmacien de 1re classe de l'Université de Paris (1912)
Ex-Professeur suppléant de Pharmacie et Matière médicale à l'Ecole de Médecine et de Pharmacie de Rouen
Chef de Laboratoire à l'Institut Pasteur de Tunis
Expert-Chimiste près les Tribunaux

MEMBRES DU JURY :

MM. MAILLARD, Professeur de chimie biologique et toxicologie — *Président.*
HÉRAIL, Professeur de Matière médicale et thérapeutique — *Juges.*
GUILLEMARD, Professeur de Chimie minérale et organique — *Juges.*

TUNIS
IMPRIMERIE YVORRA ET BARLIER, 4, RUE ANNIBAL

1923

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41536515_0082

UNIVERSITÉ D'ALGER
FACULTÉ MIXTE DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE D'ALGER

ANNÉE 1923 — N° 2

CONTRIBUTION

à

L'EXPERTISE DES LAITS COAGULÉS

THÈSE

POUR

LE DOCTORAT DE L'UNIVERSITÉ D'ALGER

(Mention Pharmacie)

présentée et soutenue publiquement le 28 Mai 1923

PAR

M. BANCE ERNEST-JEAN-HENRI

Pharmacien de 1re classe de l'Université de Paris (1912)
Ex-Professeur suppléant de Pharmacie et Matière médicale à l'Ecole de Médecine et de Pharmacie de Rouen
Chef de Laboratoire à l'Institut Pasteur de Tunis
Expert-Chimiste près les Tribunaux

UNIV. BIBLIOTHEEK LEIDEN

MEMBRES DU JURY :

MM. MAILLARD, Professeur de chimie biologique et toxicologie — *Président.*
HÉRAIL, Professeur de Matière médicale et thérapeutique — *Juges.*
GUILLEMARD, Professeur de Chimie minérale et organique — *Juges.*

TUNIS
IMPRIMERIE YVORRA ET BARLIER, 4, RUE ANNIBAL

1923

FACULTÉ MIXTE DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE

DOYEN	MM. HÉRAIL (I. ✪).
DOYEN HONORAIRE	CURTILLET (O. ✠, I. ✪).
ASSESSEUR	ARDIN-DELTEIL (✠, I. ✪).

PROFESSEURS

Anatomie	MM. WEBER (✠, ✠, I ✪).
	LEBLANC (✠, ✠, I. ✪).
Anatomie pathologique	POUJOL (I. ✪).
Chimie biologique et toxicologie	MAILLARD (✠, ✠, I. ✪).
Chimie minérale et organique	H. GUILLEMARD (A. ✪).
Clinique médicale	ARDIN-DELTEIL (✠. I. ✪).
Clinique chirurgicale	VINCENT (✠, I. ✪).
Clinique chirurgicale infantile et d'orthopédie	CURTILLET (O. ✠, I. ✪).
Clinique obstétricale et puériculture du 1er âge	ROUVIER (✠, I. ✪).
Clinique ophtalmologique	CANGE (✠, I. ✪).
Clinique médicale infantile	GILLOT (I. ✪).
Clinique des maladies des pays chauds, des maladies syphilitiques et cutanées	RAYNAUD (A. ✪, ✠).
Histoire naturelle médicale et parasitologie	TRABUT (✠, I. ✪, ✠).
Histologie	ARGAUD (✠, I. ✪).
Hygiène, hydrologie et climatologie.	CHASSEVANT (O. ✠, ✠, I. ✪).
Médecine légale	N.
Matière médicale et thérapeutique.	HÉRAIL (I. ✪).
Pathologie générale et microbiologie	SOULIE (✠, I.)✪.
Pharmacie	MUSSO (I. ✪).
Physiologie	TOURNADE (✠, ✠, A. ✪).
Physique médicale	DUFOUR (I. ✪).

PROFESSEUR HONORAIRE

M. MALOSSE, Théod. (I. ✪, ✵).

CHARGÉ DE COURS

Médecine opératoire ..... M. CABANES (✠, ✠, O. I. ✪)

AGRÉGÉS

Chirurgie	MM. COSTANTINI (✠, ✠).
	LOMBARD (✠, A. ✪).
Médecine	AUBRY (✠, ✵).
	N.
Physiologie	GIRAUD (✠, ✠).
Histre naturelle méd. et parasitologie	SENEVET (✠).
Pharmacie et matière médicale	N.

CHARGÉS DES FONCTIONS D'AGRÉGÉ

Accouchements	MM. FUSTER (✠, ✠, I. ✪).
Anatomie	FERRARI (✠, A. ✪)

NOTA. — La Faculté n'entend donner aucune approbation ni improbation aux opinions émises dans les thèses ; ces opinions doivent être considérées comme propres à leurs auteurs.

A LA MÉMOIRE DE MON PÈRE

A MA CHÈRE ÉPOUSE

FIDÈLE COMPAGNE ET DÉVOUÉE COLLABORATRICE

Témoignage de tendre reconnaissance

A MA MÈRE

MEIS ET AMICIS

A MON MAITRE

Monsieur A. GASCARD,

Docteur ès-Sciences

Professeur de Chimie et Toxicologie à l'Ecole de Médecine et de Pharmacie de Rouen

Professeur à l'Ecole Supérieure des Sciences et des Lettres de Rouen

Pharmacien-Chef des Hôpitaux de Rouen

Chevalier de la Légion d'honneur

A MON PRÉSIDENT DE THÈSE

Monsieur le Professeur L.-C. MAILLARD,

Membre correspondant de l'Académie de Médecine

Chevalier de la Légion d'honneur

AVANT-PROPOS

Il est d'usage que l'obtention du diplôme de Doctorat soit pour le jeune pharmacien le couronnement de ses études ; continuant son assiduité dans les laboratoires de la Faculté, il y acquiert rapidement ce titre, avant même de s'engager dans le tourbillon de la vie.

Pour ma part, obligé par les circonstances de ne pas prolonger mon séjour à l'Ecole, je m'étais bien proposé de ne pas laisser infructueuses mes années d'études.

Malheureusement la guerre vint troubler tous mes projets. Après cinq années passées loin du laboratoire, je me suis remis au travail, et quoique très éloigné de toute Faculté, et privé aussi de toute aide scientifique, je puis aujourd'hui, mettant à profit un travail personnel, en faire une thèse de Doctorat devant la Faculté d'Alger.

J'adresse ici l'expression de ma respectueuse reconnaissance à M. le Professeur Maillard, qui a bien voulu accepter la présidence de ma thèse et m'assister de ses conseils éclairés.

Qu'il me soit permis de revenir plus en arrière et de me rappeler mes heureuses années de collaboration avec M. le Professeur Gascard, de Rouen, qui m'a toujours guidé paternellement et a su m'inculquer un peu de ses qualités de travail et de méthode. A lui tout particulièrement, j'adresse mes plus affectueux remerciements.

Merci encore à tous ceux qui ont facilité mon travail ou m'ont prodigué leurs encouragements :

à M. le Docteur Ch. Nicolle, mon Directeur à l'Institut Pasteur de Tunis ;

à M. le Greffier du Tribunal Correctionnel, qui m'a si obligeamment procuré une bonne part des échantillons indispensables ;

à M. Marcille, Directeur du Laboratoire des Fraudes, qui m'a communiqué avec tant d'empressement les résultats de ses analyses.

Merci, enfin, à ma chère épouse qui, non seulement a su s'intéresser à toutes mes recherches, mais encore a, de si bon cœur, sacrifié des heures d'intimité en m'aidant à coordonner les matériaux rassemblés et à présenter ce travail sous forme de thèse.

INTRODUCTION

On pourrait croire que les prélèvements d'échantillons aux fins d'analyse et d'expertise datent de la loi du 1er août 1905. Or, bien avant cette époque, le principe en avait été adopté et l'application bien organisée dans quelques grandes villes de France. C'est ainsi que dans le *Traité des Altérations et Falsifications des Substances alimentaires* de MM. Villiers et Collin, 1900, il est question (1) de conserver les échantillons de lait au moyen du froid, ou, plus commodément, au moyen du bichromate de potassium, en vue d'une expertise tardive, et dans la thèse (2) de Doctorat en Pharmacie de M. A. Dubois (Bordeaux 1900), l'auteur propose déjà une méthode d'analyse pour les échantillons fermentés à la suite d'une conservation un peu longue.

Mais les efforts constatés à cette époque étaient dûs à des initiatives purement locales, il n'existait aucun lien entre les divers Services, organisés dans des centres absolument indépendants les uns des autres. Il fallait rassembler les bonnes volontés éparses et les discipliner, pour avoir le germe du Service de la Répression des Fraudes ; telle fut la tâche des promoteurs de la loi du 1er août 1905.

Il faut dire que le gouvernement français avait été devancé par les pays voisins et que des Services de prélèvement de matières alimentaires étaient créés depuis 1875 en Angleterre, 1879 en Allemagne, 1890 en Belgique et 1898 en Autriche. Le système avait donc déjà fait ses preuves.

La recherche des fraudes, en ce qui concerne les matières alimentaires, en particulier le lait, comporte trois opérations : 1° prélèvement des échantillons ; 2° analyse de triage ; 3° expertise contradictoire.

Les prélèvements doivent être faits dans des conditions bien déterminées pour offrir une suffisante garantie. Ils sont pratiqués par des agents désignés officiellement, et seuls reconnus compétents. Le lait doit être rendu bien homogène avant la prise des quatre échantillons réglementaires, afin que ceux-ci soient, à la fois, semblables entre eux, et semblables au lait dont on veut connaître la composition. Des instructions très précises ont été données à ce sujet (3). Ces échantillons doivent être placés dans des récipients dont on ne recommandera jamais assez la propreté, puis additionnés

(1) VILLIERS A. et COLLIN Eug. — *Traité des Altérations et Falsifications des Substances alimentaires.* — Paris. Doin, 1900 (p. 578. — Lait — Conservation des échantillons).

(2) DUBOIS A. — Sur l'Analyse et la Conservation des échantillons de lait prélevés pour les expertises légales. — (*Thèse-Pharmacie.* Bordeaux, juillet *1900*, p. 24-25).

(3) BORDAS F. et TOUPLAIN F. — *Laiterie.* Paris, Béranger, *1913*, (p. 68-74. — Décret du 31 juillet 1906. — Prélèvement des échantillons).

de bichromate de potassium dans la proportion de 1 gramme par litre environ. Les bouteilles sont bouchées, étiquetées et cachetées.

Trois des échantillons étant mis de côté, le quatrième est envoyé au Laboratoire des Fraudes pour y être analysé de suite : c'est l'analyse de triage, qui ne comporte pas un examen approfondi du lait, mais seulement la recherche des anomalies que celui-ci pourrait présenter.

Le soin d'une analyse plus complète est confié aux experts qui auront à examiner contradictoirement le lait suspecté et à déterminer d'une façon absolue s'il y a ou non délit de fraude. Cette troisième opération ayant un caractère définitif, il importe que les conclusions des experts puissent être catégoriques, et, pour celà, que les échantillons à examiner leur parviennent dans un état qui en permette l'analyse. Voilà pourquoi la loi a prescrit la conservation du lait ou mieux le retardement de son altération par addition de bichromate de potassium au moment du prélèvement. Malgré cette précaution, il arrive que bien souvent les échantillons attendent pendant des mois leur tour d'expertise, et cela parce que le fraudeur et son avocat, très renseignés, éternisent les discussions, retardent les poursuites, avec l'espoir, si ce n'est la conviction, que l'analyse ne sera plus possible.

Cet inconvénient, déjà très sensible en France, l'est à plus forte raison dans les pays chauds, où les échantillons se coagulent avec une étonnante rapidité pendant la saison d'été.

Les chimistes se sont émus de cet état de choses et nombreux sont ceux qui ont cherché à y remédier. Les uns se sont attachés à montrer l'insuffisance du bichromate de potassium, ses inconvénients au point de vue de l'analyse du lait, ou bien ont proposé des conservateurs différents. D'autres ont observé les altérations du lait, soit en présence, soit en l'absence du bichromate. D'autres enfin, se basant sur le processus d'altération étudié précédemment, ont donné le jour à des méthodes d'analyse des laits altérés.

Déjà en 1900, M. A. Dubois, à Bordeaux (loc. cit.), avait étudié avec M. Denigès, l'analyse et la conservation des échantillons de lait prélevés pour les expertises légales. En même temps qu'il donnait une méthode d'analyse pour les laits fermentés, il préconisait la conservation par le phénol (phénol 5 p. + alcool à 95° 1 p.) dont il employait 5 cc. par litre de lait.

Rappelons qu'en 1900 également, M. Villiers (loc. cit.) recommandait l'emploi du bichromate de potassium à la dose de 0 gr. 2 par litre pour conserver les laits d'expertise en été.

En 1907, M. Grélot (1) condamnait le bichromate, parce qu'il empêche la recherche du formol et gêne les essais réfractométrique et cryoscopique du lait. Il proposait à sa place le sublimé.

(1) GRÉLOT P. — Inconvénients du bichromate de potassium pour la conservation du lait aux fins d'analyse. — (*Journ. Ph^ie et Ch^ie*, 6^e série, t. 25, p. 369-373. — 16 avril *1907*).

En 1908, M. Defrance (1), à Montpellier, constatait des modifications dans le pouvoir rotatoire du lait et dans l'état de ses matières albuminoïdes, en présence de bichromate de K.

En 1909, M. Thorpe (2) faisait paraître en un long article les résultats des travaux des laboratoires d'Etat anglais sur l'aigrissement des laits non bichromatés (3) et leur analyse, travail très documenté sur l'altération du lactose et sa transformation en : acide lactique, glucose, galactose, alcool, acides acétique et butyrique, etc.

La même année MM. Kling et Roy, (4) se basant sur ce fait que le beurre et la matière azotée demeurent en totalité dans l'échantillon altéré, ont donné un procédé d'analyse comportant les dosages de ces deux éléments.

La même année encore, M. Gascard (5) observait l'action de la lumière sur les laits additionnés de bichromate de K.

Puis Vindisch (6) étudiait la conservation du lait, mettant en parallèle le formol, le bichromate de potassium et le sulfate cuproammoniacal.

En 1911, M. L. Garnier (7) montrait l'influence du bichromate sur certains éléments analytiques du lait, sur ses constantes physiques en particulier.

M. Ronnet (8) proposait un procédé d'analyse qui n'était qu'un nouveau mode opératoire de la méthode de MM. Kling et Roy.

En 1912, M. Rocques (9) reprenait la question de la conservation des échantillons de lait destinés à l'analyse et concluait au maintien du bichromate.

De son côté, M. Denigès (10) essayait une foule de conservateurs nouveaux et préconisait, comme étant le meilleur, le mélange phénol-alcool qui lui avait donné déjà, ainsi qu'à son élève Dubois, en 1900, d'excellents résultats.

En 1913, M. Hinard (11) examinait l'altération des laits additionnés de

(1) Defrance P. — *Les Normes des laits de Montpellier.* — Appendice : *Quelques Observations sur l'analyse des laits conservés par addition de bichromate de potassium.* — Thèse Pharmacie, Montpellier, *juillet 1908*, p. 36-41).

(2) Thorpe Th. Edw. — L'analyse des échantillons de lait adressés aux laboratoires d'Etat, en exécution des lois sur la vente des produits alimentaires et des médicaments. — Traduction de M. Fabre H. — (*Ann. Falsif.* t. 2, p. 60-76. — *Février 1909*).

(3) L'Etat anglais n'a pas adopté l'addition de bichromate au lait.

(4) Kling A. et Roy P. — L'analyse des laits altérés. — *Ann. Falsif.* t. 2, p. 257-263. — *Juin 1909*).

(5) Gascard A. — Action de la lumière sur le lait additionné de bichromate de potassium. — *C. R. Ac. Sc.*, Paris, t. 148°, p. 580-582. — *1er mars 1909*).

(6) Vindisch. — La Conservation des échantillons de lait destinés à l'analyse. — (*Ann. Falsif.*, t. 2, p. 91. — *Février 1909*).

(7) Garnier L. — Influence du bichromate de potassium sur certains éléments analytidu lait. (*Journ. Phie et Chie*, 7e série, t. 3 p. 55-59. — *16 janvier 1911*).

(8)Ronnet L. — Analyse des laits altérés.— (*Ann. Falsif.*, t. 4, p. 557-561, *novembre 1911*).

(9) Rocques X. — La Conservation des échantillons de lait destinés à l'analyse. — (*Ann. Falsif.*, t. 5, p. 338-342, *juillet 1912*).

(10) Denigès G. — La Conservation des échantillons de lait destinés à l'analyse. — (*Ann. Falsif.*, t. 5, p. 559-561. — *Décembre 1912*).

(11) Hinard G. — L'Altération des laits bichromatés. — (*Ann. Falsif.*, t. 6, p. 233-237. — *Avril 1913*).

bichromate. Auparavant (1), il avait essayé parallèlement la conservation par le bichromate, l'eau oxygénée, le formol, le chloroforme et le sublimé, et conclu à l'adoption du bichromate, le seul n'apportant aucune gêne dans la pratique ultérieure de l'analyse chimique, et déjà préconisé en Suisse et en Belgique avant de l'être en France.

Cette même année M. Dubosc (2), à Nancy, donnait une nouvelle variante du mode opératoire de MM. Kling et Roy.

Puis M. Gascard (3), à Rouen, proposait une méthode nouvelle et rapide de dosage du beurre et de la matière azotée totale dans les laits altérés.

En 1914, MM. Kling, Gelin et Lassieur (4) faisaient des recherches sur l'altération des laits bichromatés et concluaient au maintien du bichromate de K comme fournissant pratiquement les meilleurs résultats. Ils proposaient d'en tripler la dose.

En 1919, M. Fonzes-Diacon (5) appliquait la détermination de la constante de concentration moléculaire simplifiée aux laits coagulés.

MM. Marchadier et Goujon (6) étudiaient l'oxydation du lactose et de l'acide lactique et son influence sur les résultats analytiques des laits conservés par le bichromate.

M. Hildt (7) donnait un moyen de doser le lactose vrai dans les laits altérés : dosage avant et après hydrolyse totale par les acides sulfonés de la série aromatique.

En 1920, M. Hinard (8) reprenait en détail l'étude de l'altération des éléments du lait bichromaté.

M. Magnier de la Source (9) présentait encore des observations sur la valeur du procédé officiel de conservation du lait au moyen du bichromate de potassium, faisant ressortir l'impossibilité de rechercher l'addition frauduleuse de formol.

En 1921, M. Le Grand (10) donnait un nouveau procédé de dosage du

(1) Bordas F. et Touplain F. — *Laiterie.* — Paris, Béranger *1913* (p. 74-78. Conservation des échantillons pour l'analyse).

(2) Dubosc L. — L'Analyse des laits altérés. — (*Ann. Falsif.*, t. 6, p. 452-454. — *Août 1913*).

(3) Gascard A. — L'Analyse des laits altérés. — (*Ann. Falsif.*, t. 6, p. 525-530. — *Octobre 1913*).

(4) Kling A., Gelin et Lassieur A. — Recherches sur l'altération des laits bichromatés. — (*Ann. Falsif.*, t. 7, p. 244-250. — *Mai 1914*).

(5) Fonzes-Diacon. — La Constante moléculaire simplifiée dans l'analyse des laits coagulés. — (*Ann. Falsif. et Fr.*, t. 12, p. 202-203. — *Juill.-Août 1919*).

(6) Marchadier et Goujon. — Sur l'oxydation du lactose et de l'acide lactique et son influence sur les résultats analytiques des laits conservés par le bichromate de potassium — (*Ann. Ch. anal.*, t. 1, p. 288-290. — *Septembre 1919*).

(7) Hildt E. — Dosage du lactose dans les laits altérés. — (*Ann. Falsif. et Fr.*, t. 13, p. 21-25. — *Janvier-Février 1920*).

(8) Hinard G. — Composition et Analyse des laits conservés par le bichromate. — (*Ann. Falsif. et Fr.*, t. 13, p. 463-474. — *Août-Septembre 1920*).

(9) Magnier de la Source L. — Observations sur la valeur du procédé officiel de Conservation du lait au moyen du bichromate de potassium. — (*Ann. Chim. anal.*, t. 2, p. 242-245. — *Août 1920*).

(10) Le Grand L. — Dosage du lactose en présence d'autres sucres réducteurs — Application aux laits altérés et aux laits condensés sucrés. — (*Ann. Falsif. et Fr.*, t. 14, p. 132-136 et 268-269. — *Mai* et *Juillet-Août 1921*).

lactose en présence d'autres sucres réducteurs, par la liqueur de Barfœd.

Enfin, la même année, M. Andoyer (1) donnait du procédé de MM. A. Kling et P. Roy une nouvelle variante permettant de déterminer, outre les chiffres de matière grasse et de matière azotée totale, celui des cendres du lait altéré.

Telle est en somme la suite des travaux intéressant de près ou de loin les laits altérés et leur analyse. Nous voyons que les recherches, interrompues pendant les années de guerre, ont été reprises aussitôt après.

Nous allons maintenant passer en revue les diverses méthodes analytiques proposées et les objections qu'elles ont pu soulever.

(1) ANDOYER G. — Détermination du mouillage et de l'écrémage sur des échantillons de lait altéré. — (*C. R. Ac. Sc.*, Paris, t. 173e, p. 588-589, *10 octobre 1921*).

CHAPITRE PREMIER

EXPOSÉ DES MÉTHODES D'ANALYSE DES LAITS ALTÉRÉS

Nous présenterons ces méthodes sans les classer, dans l'ordre où elles ont paru. Nous exposerons chacune d'elles avec les considérations, parfois très longues, qui l'accompagnent, et presque exactement dans la forme donnée par son auteur.

1° Méthode de M. A. Dubois, Bordeaux, 1900 ;
2° Méthode des laboratoires d'Etat anglais. M. Ed. Thorpe, 1909 ;
3° Méthode de MM. A. Kling et P. Roy, 1909 ;
4° Méthode de M. Ronnet, 1911 ;
5° Méthode de M. Dubosc, 1913 ;
6° Méthode de M. Gascard, 1913 ;
7° Application de la constante de concentration moléculaire simplifiée à l'analyse des laits coagulés. M. Fonzes-Diacon, 1919 ;
8° Dosage du lactose dans les laits altérés. M. Hildt, 1919 ;
9° Application aux laits altérés du dosage du lactose en présence d'autres sucres réducteurs, par la liqueur de Barfœd. M. Le Grand, 1921 ;
10° Méthode de M. Andoyer, 1921.

MÉTHODE DE M. A. DUBOIS, BORDEAUX, 1900

Cette méthode, la première proposée, s'adresse aux échantillons de lait parvenant au chimiste en pleine fermentation lactique ; elle a pour objet de remonter à la composition du lait avant toute altération.

L'auteur rend d'abord le lait homogène.

A. — Le flacon renfermant le lait, étant bouché solidement, est porté au bain d'eau à 35°-40°, pendant dix minutes, pour liquéfier la masse butyreuse. Au bout de ce temps, agiter vigoureusement pendant cinq à six minutes.

B. — Mesurer 100 c.c. d'eau distillée et, dans un matras jaugé de 200 c.c., verser alternativement de cette eau distillée et du lait à essayer, en imprimant au récipient jaugé un léger mouvement giratoire. Ajouter le reste des 100 c.c. d'eau, et, avec le lait, compléter les 200 c.c. à 1 c.c. près. Boucher alors le matras avec la pulpe du pouce et le retourner très len-

tement, à plusieurs reprises, pour mélanger et chasser l'air émulsionné. Ajouter une goutte d'éther pour faire disparaître la mousse, achever de remplir, avec du lait, jusqu'au trait de jauge, enfin retourner plusieurs fois pour obtenir un mélange très homogène.

Avec ce lait dédoublé, l'auteur pratique les opérations suivantes :

1° *Détermination de la densité.* — Si 50 c.c. du lait dédoublé pèsent, par exemple, 50 gr. 80, la densité du lait non dédoublé est évidemment

$$\frac{50{,}80 - 25}{25} = 1032$$

2° *Détermination de l'acidité.* — Titrage acidimétrique en présence de phtaléine du phénol et évaluation en acide lactique par litre (**L**) ;

3° *Dosage du lactose.* — Par la liqueur cupropotassique ; l'auteur ajoute au chiffre trouvé la quantité de lactose converti en acide lactique, soit l'acidité lactique diminuée de 1 gr. 50, acidité normale du lait douze heures après la traite ;

4° *Dosage de la caséine.* — Par le procédé cyanoargentimétrique de M. Denigès ;

5° *Dosage de la matière grasse.* — Par le procédé Adam ;

6° *Détermination de l'extrait sec à 100°.* — Evaporation de 20 cc. de lait dédoublé au bain-marie bouillant, dans une capsule de platine à fond plat. Au poids trouvé par litre, l'auteur ajoute la quantité d'acide lactique que le dosage lui a fait connaître. Il a reconnu, par l'expérience, que le nombre ainsi trouvé est sensiblement égal à celui qu'aurait donné le lait frais ;

7° *Dosage des cendres.* — Ce dosage est pratiqué comme sur un lait normal.

« Lorsque le lait a subi des décompositions plus avancées, dit l'auteur, « il n'est plus possible, d'après sa composition actuelle, d'avoir des ren- « seignements sur sa composition primitive ».

MÉTHODE DES LABORATOIRES D'ÉTAT ANGLAIS DE M. ED. THORPE, 1909

Nous ferons remarquer, tout d'abord, que les échantillons de lait, en Angleterre, sont prélevés sans addition de bichromate de potassium, et parviennent plus ou moins aigres déjà au laboratoire.

L'auteur s'est proposé de savoir si les modifications dûes à l'aigrissement empêchent de reconnaître les caractères que possédait le lait frais et de déterminer le degré de falsification que ce lait a pu subir.

Les incriminations de mouillage et écrémage sont basées : 1° sur la détermination de la *proportion de beurre ;* 2° sur la quantité totale des « *solides non beurre* » et sur la quantité *d'eau.*

Il ne semble pas, dit l'auteur, que les bactéries productrices d'enzymes hydrolisant les matières grasses, puissent se développer suffisamment dans le lait aigre pour en modifier le beurre.

De multiples essais lui ont montré qu'en tout cas, les proportions de beurre ne varient guère pendant l'aigrissement du lait. Les chiffres donnés à l'appui permettent d'établir, qu'en fait, dans les laits qui subissent des altérations, en particulier dans ceux qui s'aigrissent, cette altération est de trop faible importance pour modifier la preuve expérimentale d'une incrimination, basée sur le manque de beurre d'un lait.

Quant aux incriminations basées sur une insuffisance des constituants « solides non beurre », elles entraînent des considérations plus compliquées. Le poids de ces constituants se modifie de façon variable par les fermentations qui accompagnent l'aigrissement du lait, cela n'est pas douteux ; d'où la nécessité d'examiner en détail ces modifications, afin de de connaître leur influence sur les facteurs qui permettent d'établir la preuve et la mesure d'une sophistication.

Altération du lactose. — On sait que le lactose est le principal constituant du lait modifié par le processus de l'aigrissement ; il se forme, au bout de très peu de temps, de *l'acide lactique* à ses dépens. La rapidité de cette formation dépend surtout de la température ; elle est dûe à l'action de microorganismes nombreux.

La transformation du lactose en acide lactique ne comporte, au point de vue chimique, aucune perte de poids.

$$\underset{\text{a. lactose}}{C^{12}H^{22}O^{11}.H^2O} = \underset{\text{d. glucose}}{C^6H^{12}O^6} + \underset{\text{d. galactose}}{C^6H^{12}O^6}$$

$$\underset{\substack{\text{d. glucose}\\ \text{ou d. galactose}}}{C^6H^{12}O^6} = 2\ \underset{\text{(d+l) acide lactique}}{CH^3 - CHOH - CO^2H}$$

Comme l'acide lactique est neutralisé dans le cours de l'analyse par un poids connu de strontiane, puis pesé avec les autres constituants solides, le poids total, diminué du poids de strontiane ainsi ajouté, serait équivalent au poids des constituants « solides non beurre » du lait frais. Il faudrait pour cela qu'il ne se fût produit aucun autre changement. En fait, il se produit d'autres transformations amenant une perte de poids.

L'expérience montre qu'*il y a sûrement, en même temps que formation d'acide lactique, production de substances qui sont gazeuses à la température ordinaire ou qui sont volatilisées pendant le dosage des « solides non beurre » du lait aigre.* Le poids de ces substances gazeuses ou vola-

tilisables, sans être important, suffit à modifier l'appréciation du degré de sophistication d'un lait.

L'auteur s'attache alors à montrer ce que sont ces substances et quelles sont leurs proportions, puis les conclusions que l'on peut déduire de leur présence, conclusions ayant une réelle valeur pour l'appréciation des caractères du lait primitif.

Il n'est pas douteux qu'une certaine quantité d'acide lactique, quantité probablement très petite, est transformée en *acide butyrique* dans certaines conditions, même au début de l'aigrissement du lait. Les cas dans lesquels il s'est formé de l'acide butyrique en proportions notables ont été relativement rares pour les échantillons reçus dans les laboratoires du gouvernement. Par contre ces échantillons ont presque toujours renfermé de *l'acide acétique*, mais en proportion faible, n'excédant que rarement 0,2 p. 100, même après un mois.

Le mécanisme précis de la production des acides volatils dans le lait n'est pas très clair.

L'acide butyrique dériverait de l'acide lactique :

$$\underset{\text{acide lactique}}{2\ CH^3 - CHOH - CO^2H} = \underset{\text{acide butyrique}}{CH^3 - CH^2 - CH^2 - CO^2H} + 2\ CO^2 + 2\ H^2$$

L'acide acétique peut provenir, soit de l'oxydation de l'acide lactique, soit de celle de l'alcool éthylique qui est un des constituants constants du lait aigre.

$$\underset{\text{acide lactique}}{CH^3 - CHOH - CO^2H} + O^2 = \underset{\text{acide acétique}}{CH^3 - CO^2H} + CO^2 + H^2O$$

$$\underset{\text{alcool éthylique}}{CH^3 - CH^2OH} + O^2 = \underset{\text{acide acétique}}{CH^3 - CO^2H} + H^2O$$

Pour chaque molécule d'acide acétique produit, il s'est formé, dans le premier cas une molécule d'acide carbonique et une molécule d'eau ; dans le second cas une molécule d'eau; mais il y a déjà eu perte d'une molécule d'acide carbonique au moment de la formation de l'alcool. La perte est ainsi la même dans les deux cas.

Dans la formation d'une molécule d'acide butyrique, à partir de l'acide lactique, il se forme deux molécules d'acide carbonique et deux molécules d'hydrogène.

Dans le cours de l'analyse, on neutralise les acides acétique, butyrique et carbonique dissous par la strontiane, avant évaporation. On pèse ensuite ces acides avec les « solides non beurre ». Ce que l'on ne pèse pas, c'est l'acide carbonique qui s'est dégagé du lait aigre avant sa neutralisation, ainsi que l'eau et l'hydrogène libre qui se sont formés indirectement à partir du lactose.

Quant à *l'alcool éthylique*, sa formation est à peu près constante dans les laits conservés. Presque tous les échantillons examinés en contenaient. La conversion du lactose en alcool se produit en deux temps :

$$\underset{\text{a. lactose}}{C_{12}H_{22}O_{11}.H_2O} = \underset{\text{d. glucose}}{C_6H_{12}O_6} + \underset{\text{d. galactose}}{C_6H_{12}O_6}$$

$$\underset{\text{d. glucose}}{C_6H_{12}O_6} = 2\,\underset{\text{alcool éthylique}}{C_2H_5OH} + 2\,CO_2$$

Certains auteurs ayant montré que le galactose est fermentescible également, dans certaines conditions, le lactose peut donner :

$$\underset{\text{a. lactose}}{C_{12}H_{22}O_{11}.H_2O} = 4\,\underset{\text{alcool éthylique}}{C_2H_5OH} + 4\,CO_2$$

La production d'une molécule d'alcool correspond à l'élimination d'une molécule d'acide carbonique, de telle sorte que la diminution du poids du lactose, par suite de la formation de ces deux composés volatils, est égale aux 90/46 du poids d'alcool produit.

Comme dans toute fermentation alcoolique, il peut se former, comme produits secondaires, un peu *d'alcools supérieurs, de glycérol, d'acide succinique.* Ces corps sont, dans le cas qui nous occupe, en quantités pratiquement négligeables, puisqu'ils correspondent à 1/20 environ du total et que le produit principal est lui-même peu abondant.

Altération des albuminoïdes. — Le caillage du lait est le premier stade d'une simple précipitation de la caséine due à l'influence des acides lactique et acétique sur les composés calciques de la caséine. Il peut se produire d'autres changements protéolytiques dûs à des bactéries :

Caséine et albumine se transforment en protéoses et peptones qui donnent ensuite des composés aminés (leucine, lysine, tyrosine), même de petites quantités d'ammoniaque et de bases aminées. *Quelque profonds que puissent être ces changements, ils n'ont pas d'influence appréciable sur le poids des matières protéiques.* L'auteur prouve expérimentalement que le résultat de toutes ces transformations n'a qu'une très petite influence sur le poids des matières solides.

La perte totale de ces matières varie seulement de 0,2 à 0,5 pour 100, par suite surtout de la transformation du lactose en alcool et acides volatils.

L'auteur a déterminé les quantités d'ammoniaque produites dans huit séries d'expériences (y compris les amines). Ces quantités ont varié de 0,001 à 0,012 au bout de huit semaines. Elles correspondent au plus à des pertes de 0,006 à 0,075 de substances protéiques, chiffres pratiquement négligeables.

Démonstration expérimentale. — L'auteur ne s'en est pas tenu là. Il a

voulu connaître mieux la nature et la quantité des substances qui se produisent pendant l'aigrissement du lait. Pour cela il a mélangé 90 litres de lait avec un quart de leur volume d'eau, et les a placés dans des flacons bouchés, à la température moyenne de 18° pendant dix à douze semaines. Au bout de ce temps il a fait les recherches suivantes :

Par distillations et rectifications, il en a extrait une certaine quantité (76 gr. 4) d'alcool éthylique qu'il a purifié et identifié d'une façon absolue par : son point d'ébullition = 78°,3 - 78°,5 — sa densité = 0,7935 — par formation d'iodure d'étyle de P. E. = 71°,1 - 71°,8 et formation d'éther m. dinitrobenzoïque de P. F. = 92°,6.

De la solution des sels de sodium des acides volatils, résidu de la distillation précédente, il a extrait 390 grammes d'acide n. butyrique qu'il a également purifié et identifié par :

P. E. = 162° - 166° — Paratoluidide de P. F. = 73°,7. — Sel de baryum à 44,13 % de Ba, chiffre théorique du butyrate de baryum.

Il a entrevu encore la présence d'acides formique et propionique, mais n'a pu en obtenir la preuve.

Finalement, par neutralisation fractionnée et distillation, il a obtenu une solution aqueuse d'acide acétique absolument pur qu'il a caractérisé par :

Paratoluidide à P. F. = 147°,8. — Sel de baryum à 53,2 % de Ba, chiffre théorique 53,8 % pour l'acétate de baryum.

Il a ainsi isolé 116 grammes d'acide acétique, soit de un quart à un cinquième du total des acides volatils.

En résumé les acides reconnus avec certitude dans le lait aigre sont les acides acétique et butyrique. S'il y a aussi de l'acide propionique, ce ne peut être qu'à l'état de traces insignifiantes.

L'étude d'une portion de lait fermenté a montré que les bases volatiles, provenant de l'altération des protéides, sont pratiquement constituées par de l'ammoniaque.

L'auteur considère donc comme désormais prouvé que la plus grande partie des produits volatils de la fermentation du lait, autres que l'eau et l'acide carbonique, sont l'alcool éthylique et les acides acétique et butyrique. Il ne se forme qu'une faible quantité d'ammoniaque.

La quantité des produits secondaires (acides propionique ou homologues supérieurs, bases organiques volatiles) est toujours en si faible proportion, comparativement à celles des constituants principaux, qu'on peut les considérer comme pratiquement sans importance.

La démonstration expérimentale, ci-dessus résumée, éclaire le sujet du travail : connaître les changements qui se produisent pendant l'aigrissement des laits, afin de pouvoir déterminer avec quelque exactitude quels étaient les constituants « solides non beurre » des échantillons soumis à l'analyse par les Tribunaux.

Les analyses adressées aux laboratoires d'Etat sont faites par le pro-

cédé dit de « macération » et le poids des « solides non beurre » ainsi que celui du beurre sont déterminés à part, dans des essais en double.

Mode opératoire par « macération ». — Avant de procéder à l'analyse d'un échantillon de lait aigre, dans les laboratoires du Gouvernement, on vide le flacon dans un récipient approprié, pour mélanger parfaitement le lait à l'aide d'un fouet en fil de fer.

Des prises de dix grammes sont pesées dans des capsules à fond plat, tarées avec un morceau d'agitateur à bout aplati. Toutes les pesées et mesures sont vérifiées séparément par deux chimistes. Les quantités pesées sont ensuite neutralisées par une solution N/10 de strontiane, en se servant de phénolphtaléine comme indicateur.

Le lait est ensuite évaporé sur un bain-marie jusqu'à ce que le résidu ait la *consistance d'un fromage sec*. On achève cette dessiccation à une faible chaleur, en agitant constamment le résidu.

20 centimètres cubes environ d'éther anhydre sont versés sur ce résidu que l'on triture soigneusement à l'aide de l'agitateur. On filtre la solution éthérée et le beurre traverse le filtre qui a été antérieurement desséché et pesé. On achève la macération du lait par huit additions successives d'éther. On a alors les « solides non beurre » qui sont à un état de très fine division et qui ressemblent à la craie précipitée des pharmaciens. Avant leur dessication complète, on introduit autant que possible ces « solides non beurre » dans un flacon à pesées avec le filtre dont le beurre a été séparé par épuisement. Le tout, ainsi que la capsule de platine, à laquelle adhèrent de petits débris, est séché à 100° pendant trois heures, puis pesé. Une nouvelle pesée est faite après dessiccation de deux heures. Une troisième vérification de ce poids est faite enfin après une troisième heure. Les deux dernières pesées ne doivent pas différer de plus de 1 milligramme.

On déduit 0 gr. 00428 pour chaque centimètre cube de strontiane employé pour la neutralisation. Le résultat donne les « solides non beurre » se trouvant dans le lait au moment de l'analyse.

La solution éthérée contenant le beurre a été reçue dans un petit flacon taré. On en distille l'éther et on pèse le beurre déshydraté resté.

Pour *doser l'alcool*, on distille 50, 75 ou 100 grammes de lait. Le distillat est replacé dans l'alambic après neutralisation à l'aide de soude caustique N/10 en se servant de tournesol comme indicateur. On détermine la densité du distillat à l'aide d'un pycnomètre de 50 gr. et la quantité d'alcool correspondant à cette densité est déduite d'une table. On multiplie la proportion p. 100 en poids d'alcool par $\frac{90}{46}$, comme nous l'avons déjà expliqué, pour obtenir la proportion pour 100 de lactose ayant disparu dans la formation d'alcool.

La proportion *des acides volatils* est déterminée comme suit : 10 gr. de lait placés dans une capsule de platine sont neutralisés jusqu'à moitié de

leur acidité totale (déterminée déjà sur une autre prise d'essai), à l'aide de soude caustique ; on ajoute un peu de phénolphtaléine.

Le mélange est évaporé a siccité, sur un bain-marie, et l'on agite souvent. Après avoir ajouté environ 20 c.c. d'eau distillée bouillante, pour permettre de broyer et de détacher les particules solides contenues dans la capsule, on ajoute à nouveau de la soude caustique N/10 jusqu'à neutralité. La différence entre l'acidité initiale du lait et celle de la portion évaporée est considérée comme étant dûe à de l'acide acétique. Comme l'auteur l'a déjà montré, *la formation de chaque molécule de cet acide (60 p.) prouve la perte d'une molécule d'acide carbonique et d'une molécule d'eau correspondant à 62 p. de lactose initial.*

Si l'on désire tenir compte de *l'acide butyrique* pouvant être présent, les acides volatils sont séparés par distillation du lait employé pour la détermination de l'alcool. Une partie du mélange aqueux d'acides est neutralisée par de l'hydroxyde de baryum, évaporée et desséchée jusqu'à poids constant.

De la proportion de baryum p. 100 contenu dans le mélange des sels, on déduit la proportion des deux acides.

Chaque molécule d'acide butyrique (88 p.) prouve une perte de 92 p de lactose. La perte de lactose due à la formation d'acide acétique est calculée comme ci-dessus.

Pour estimer les petites quantités d'ammoniaque formées, on amène 2 gr. de lait au volume de 100 c.c. à l'aide de l'eau distillée exempte d'ammoniaque. On filtre soigneusement sur un filtre lavé. Dans 100 c.c. du filtrat clair, additionné de 50 c.c. d'eau distillée, on détermine la proportion d'ammoniaque par la méthode de Nessler, en se servant d'une solution étalon de chlorure d'ammonium à 0 milligr. 01 d'ammoniaque par centimètre cube.

Dans presque tous les cas examinés, la quantité initiale réelle des « solides non beurre » a été déterminée de façon très précise par l'analyse d'échantillons conservés parfois pendant longtemps (dans quelques cas plus d'un an). La proportion d'eau ajoutée a toujours été convenablement indiquée à moins de 1 % près par l'analyse du lait fermenté.

Les échantillons de lait reçus dans les laboratoires n'atteignent que fort rarement le terme « fermentation butyrique ».

Il n'est pas procédé à l'analyse si, par suite d'un état de décomposition très avancée du lait, la formation d'une quantité considérable d'acides divers a provoqué la précipitation de la caséine, rendant ainsi l'homogénéisation de l'échantillon trop difficile.

On peut pratiquement procéder à l'analyse, tant que le lait aigre n'a pas dépassé le terme de la fermentation butyrique.

La méthode, employée par les laboratoires du Gouvernement, a été expérimentée par de nombreux chimistes et leur a donné des résultats tout à fait satisfaisants pour reconnaître la preuve et le degré de falsi-

fication des laits ; la question de l'addition de substances antiseptiques ou préservatrices aux échantillons n'a, par suite, aucun intérêt en Angleterre.

MÉTHODE DE MM. A. KLING ET P. ROY, 1909

Les auteurs se sont proposé uniquement de rendre réalisable la détermination du mouillage, dans les laits altérés, avec un nombre restreint d'éléments.

Principe. — La méthode est basée sur les considérations suivantes :

Pourvu qu'un lait ait été conservé en flacon bien bouché, quelque diverses et quelque profondes qu'aient été les fermentations qu'il a subies, *son poids de matière grasse reste, en général constant, et sa teneur en azote total invariable.*

Or la détermination de ces deux valeurs permettra de reconnaître, dans un lait, le mouillage, l'écrémage, ou ces deux opérations effectuées simultanément. En effet, la première (mouillage) diminue à la fois et dans un même rapport les valeurs du beurre et de la matière azotée, la seconde (écrémage) réduit la teneur en beurre et augmente légèrement celle en matières albuminoïdes ; quant aux deux opérations effectuées simultanément, elles provoquent un abaissement des nombres de matière grasse et d'azote total, mais les réductions sur les deux nombres ne sont pas proportionnelles entre elles.

Technique de la méthode. — L'analyse porte sur la totalité de l'échantillon (par suite de l'impossibilité de faire un prélèvement régulier sur un échantillon aussi peu homogène qu'un lait caillé). Celui-ci est pesé, additionné d'acide acétique jusqu'à franche acidité au tournesol, chauffé, puis filtré sur une cartouche en papier filtre qui retient le coagulum et la matière grasse, et laisse passer un sérum clair, renfermant les éléments solubles du lait ainsi que les produits non coagulables, provenant de la peptonisation partielle des matières albuminoïdes. Ce sérum est versé dans un matras à long col, en verre d'Iéna, et évaporé dans le vide au bain-marie. La cartouche et son contenu sont séchés complètement à 110°, placés dans un appareil Soxhlet et épuisés à l'éther. L'épuisement est assez long et difficile ; aussi, avant de le considérer comme terminé, est-il indispensable de changer l'éther de l'appareil, de recommencer l'épuisement, et de vérifier par évaporation que le nouvel éther d'épuisement n'a plus rien dissous. De sa solution éthérée, la matière grasse est extraite par évaporation et passage à l'étuve. Quant à la cartouche, on la sèche pour la débarrasser d'éther, on l'introduit, avec son contenu, dans le matras contenant le résidu d'évaporation du sérum et on y détruit le tout par la méthode de Kjeldahl (acide sulfurique et mercure). Après quelques heures d'attaque à chaud, on obtient un liquide clair ; on l'étend d'eau, on y précipite le mercure

par l'hypophosphite de soude, on filtre pour séparer le mercure, et, par addition d'eau, ou l'amène à occuper un volume connu (par exemple celui de l'échantillon mis en œuvre). Sur une partie aliquote de ce volume on fait le dosage d'ammoniaque par distillation dans l'appareil d'Aubin et titrage alcalimétrique en présence d'hélianthine comme indicateur. Les résultats sont rapportés au litre du lait, en divisant le poids de la prise d'essai par 1,033, densité moyenne des laits, et l'azote total trouvé est exprimé en poids de matières albuminoïdes du lait en multipliant ce poids d'azote par le coefficient 6,39. Ce produit sera appelé *matière azotée totale du lait.*

Au point de vue analytique, disent les auteurs, *la méthode est exacte et sensible.* Elle ne s'est jamais montrée en défaut, même avec des laits conservés plus de deux années.

Au point de vue interprétation, les résultats fournis par la méthode sont suffisants. Dans le cas des laits suspects accompagnés d'un échantillon de comparaison, cela va sans difficulté. Dans le cas des laits isolés, la comparaison se fait avec un lait moyen, avec le seul secours de deux éléments dosés, en regardant comme suspect tout lait ayant un chiffre de beurre inférieur à 32 ou 33 grammes par litre et un chiffre de matière azotée totale inférieur à 33 grammes, valeur moyenne observée en France par les auteurs.

Les résultats fournis montrent que pour l'appréciation de la pureté des laits, il y a correspondance entre les conclusions tirées de la considération soit de l'extrait dégraissé, soit du poids de matière azotée totale.

Calcul du mouillage et de l'écrémage. — Appelant B et C les poids de beurre et de matière azotée totale du type de comparaison, et b et c les valeurs trouvées pour le lait incriminé, on obtiendra la valeur du mouillage M à l'aide de l'expression :

$$M = 100 - x \quad (1)$$

$$\text{dans laquelle } x = 100 \times \frac{c}{C} \quad (1')$$

et celle de l'écrémage E à l'aide des formules :

$$E = 100 - y \ (2) \text{ avec } y = 100 \frac{b}{B} \quad (2')$$

Pour le cas d'un mouillage et d'un écrémage simultanés, on appréciera d'abord le mouillage à l'aide de l'expression (1) et on calculera ensuite la teneur en beurre B' que devrait avoir le lait mouillé s'il n'avait pas été écrémé. B', substitué à B dans la formule (2') fournira la valeur de l'écrémage.

Pour un lait accompagné d'un échantillon de comparaison, le problème ne souffre aucune difficulté.

Si on a affaire à un lait isolé, sur l'origine duquel on ne possède aucun

renseignement précis, on prendra 40 et 33 comme valeurs représentatives de B et C. Dans ces conditions, on aura sensiblement : (ceci n'est pas posé par les auteurs comme règle absolue, mais donné à titre d'indication) :

1° Pour un lait mouillé : $B - C \geqslant o$ avec $\begin{cases} B < 40 \\ C < 33 \end{cases}$

2° Pour un lait écrémé : $B - C \leqslant o$ avec $\begin{cases} B < 40 \\ C > 33 \end{cases}$

3° Pour un lait simultanément mouillé et écrémé : $B - C \leqslant o$ avec $\begin{cases} B < 40 \\ C < 33 \end{cases}$

Conclusion des auteurs. — La méthode proposée offre tout autant de garanties que la méthode officielle actuellement adoptée. On pourra donc sans crainte la substituer à cette dernière, lorsque, par suite de l'altération des échantillons à analyser, celle-ci ne pourra être employée.

Nota. — A la même époque, des recherches analogues étaient faites au laboratoire central de la Répression des Fraudes, et M. A. Bruno (1), Chimiste-Chef, en concluait que c'est bien le coefficient 6,39 (et non pas 6,25) qu'il convient d'employer pour passer de l'azote à la caséine.

MÉTHODE DE M. RONNET, REIMS, 1911

M. Ronnet estime que l'analyse des laits altérés par la méthode anglaise d'une part, par la méthode de MM. Kling et Roy d'autre part, n'est pas sans présenter certaines difficultés opératoires ; à la dernière il reproche la séparation parfois très pénible du coagulum et du sérum, l'épuisement fort long du coagulum par l'éther et l'attaque par l'acide sulfurique d'une masse trop considérable de matière organique. C'est pourquoi il a proposé le mode opératoire suivant :

Mode opératoire. — Une capsule de porcelaine, de 500 gr. ou plus, suivant que l'échantillon est de 250 gr. ou plus, munie d'un agitateur de verre ou d'une spatule de porcelaine, est tarée à 1 décigramme près. On y introduit *la totalité* du lait à analyser, dont on prend le poids P, et une quantité de sable siliceux calciné à raison de 100 gr. pour 250 de lait, puis on porte la capsule au bain-marie jusqu'à dessiccation à peu près complète. On agite de temps en temps, et, à la fin, on détache la matière qui tend à

(1) Bruno A. — Note (*Ann. Falsif.*, t. 2, p. 263 — Juin 1909).

coller aux parois de la capsule. Il faut éviter la moindre perte pendant cette opération.

Lorsque l'évaporation est terminée, que la matière n'a plus de tendance à adhérer à la capsule, on porte le tout à l'étuve chauffée à 90°-95° jusqu'à poids constant. Cela dure quelques heures. Soit p le poids de la matière sèche totale, lait et sable compris.

On transvase le produit sec dans un mortier de porcelaine, on détache les parcelles adhérant à la capsule et à la spatule et on pulvérise le tout ; on passe au tamis métallique n° 25 et on mélange intimement.

La poudre homogène obtenue est replacée dans sa capsule, reportée à l'étuve quelque temps, puis mise à refroidir dans un dessiccateur. C'est sur cette poudre que se feront les dosages du beurre et de l'azote.

Dosage de la matière grasse. — 10 gr. et 20 gr. de la poudre, si on fait le dosage en double, sont introduits dans des tubes de verre, effilés à une extrémité qu'on a garnie de coton hydrophile ; par dessus, on place un autre tampon de coton. Les tubes à épuisement employés par l'auteur étaient en verre vert, de 19 centimètres de longueur sur 17 millimètres de diamètre extérieur. Le tube contenant la poudre est placé sur un support au-dessus d'une capsule de verre tarée, et on épuise par l'éther jusqu'à ce que quelques gouttes du liquide qui s'écoule par la pointe effilée, évaporées sur un verre de montre, ne laissent plus aucun résidu. Il est facile de régler l'écoulement en fermant plus ou moins le tube avec un bouchon de liège. On laisse l'éther s'évaporer spontanément, puis on porte la capsule à l'étuve où on la laisse jusqu'à ce que son poids ne varie plus.

Soit B la quantité de matière grasse pour 100 de matière sèche totale.

Dosage de l'azote total. — 10 gr. de poudre sont introduits dans un matras à long col de 300 cc. en verre d'Iéna et additionnés de 1 gramme de mercure et de 25 cc. d'acide sulfurique à 66° B'.

On chauffe avec précaution pour éviter la mousse au début. On chauffe encore deux heures après que le liquide est devenu incolore. On laisse refroidir, on étend d'eau et décante dans un ballon de 1 litre ; on lave à plusieurs reprises par décantation en évitant d'entraîner trop de sable.

On ajoute quelques grains de pierre ponce, III à IV gouttes de phénolphtaléine à 1 %, de la soude concentrée jusqu'à virage de l'indicateur, 5 cc. de monosulfure de sodium saturé, un morceau de grenaille de zinc et on attelle de suite le ballon à l'appareil à distiller. L'ammoniaque est recueillie dans 10 cc. d'acide sulfurique N étendu d'un peu d'eau et coloré par quelques gouttes de tournesol sensible.

Le titrage est fait à la soude normale.

Soit N le nombre de centimètres cubes d'acide saturés par l'ammoniaque, N × 0,14 × 6.39 sera le poids de matière azotée totale de 100 gr. de matière sèche totale (M).

En possession de B et de M, il est facile de calculer le pourcentage du lait en matière grasse et en matière azotée.

$$B \times \frac{p}{P} \times \frac{1000}{100} \text{ ou } B \times \frac{p}{P} \times 10$$

$$\text{et } M \times \frac{p}{P} \times 10$$

Reste à interpréter les résultats, ce qui se fait comme pour tout autre méthode. Les minima admis par M. Ronnet sont 30 pour le beurre et 29 pour la matière azotée. Au lieu de 1033, il fait intervenir le chiffre 1030, densité moyenne des laits de sa région.

La publication de cette méthode fut l'origine d'une discussion entre MM. Kling et Ronnet. M. Kling (1) n'acceptait par les reproches faits à son procédé, sauf celui concernant le dégraissage du coagulum sec par l'éther. Il y apportait d'ailleurs depuis longtemps la modification suivante :

Laver à plusieurs reprises le coagulum à l'eau distillée, dans la douille même, et ajouter les eaux de lavage au sérum filtré ; égoutter le caillot, le sécher partiellement à l'étuve à 90°-95° et l'épuiser d'abord à l'acétone (4 à 5 heures), puis à l'éther jusqu'à complet dégraissage. Les solutions acétoniques et éthérées abandonnent par évaporation un mélange d'eau et de matière grasse que l'on extrait définitivement par une dernière reprise à l'éther. A son tour, M. Kling reprochait à M. Ronnet (à juste titre d'ailleurs) de ne pas tenir compte de la présence possible de l'ammoniaque et de bases azotées volatiles et d'évaporer sans acidification préalable ; ce dont M. Ronnet tint compte par la suite (2) en préconisant l'acidification par l'acide oxalique. Les autres critiques de M. Kling, au sujet de l'homogénéité de la matière sèche totale (lait et sable), qu'il jugeait douteuse, et sur les inconvénients dûs à la présence du sable dans la destruction des matières organiques (cause de soubresauts) ne furent pas soutenues, il n'en fut plus question.

Un peu plus tard, en 1913, M. Vuaflart (3), à Arras, ayant eu l'occasion d'expérimenter les méthodes d'analyse de MM. Kling et Roy et de M. Ronnet, donnait la préférence à la méthode Kling et Roy.

(1) Kling A. — L'analyse des laits altérés. — (*Ann. Falsif.*, t. 4, p. 636-638. *Décembre 1911*).

(2) Ronnet L. — L'analyse des laits altérés. — (*Ann. Falsif.*, t. 5, p. 45-46. *Janvier 1912*).

(3) Vuaflart L. — L'analyse des laits altérés. — (*Ann. Falsif.*, t. 6, p. 148-149. *Mars 1913*).

MÉTHODE DE M. DUBOSC, 1913

Puis M. Dubosc, à Nancy, avait tout d'abord adopté une méthode intermédiaire qui consistait à traiter l'échantillon par l'acide acétique et la chaleur, à égoutter le coagulum sur un filtre qui était ensuite desséché en présence de sable et broyé au mortier. Le dosage de la matière grasse était effectué sur une partie de la poudre obtenue, et celui de l'azote sur une partie de la poudre et un volume correspondant de sérum.

M. Dubosc a reconnu que la dessiccation en présence de sable est parfaitement inutile et opère de la manière suivante :

Mode opératoire. — L'échantillon, bien agité, est mesuré dans une éprouvette jaugée, soit V son volume. On le transvase dans une capsule en porcelaine, on rince l'éprouvette avec un peu d'eau bouillante, on acidifie franchement avec de l'acide acétique et on chauffe sur un bain-marie jusqu'à ce que le coagulum soit bien rassemblé. On jette sur un filtre à plis, assez grand, on rince la capsule avec de l'eau bouillante et on laisse égoutter jusqu'au lendemain, le liquide étant recueilli dans une fiole jaugée de 500 centimètres cubes.

On pèse le filtre et son contenu sur un verre de montre, soit P son poids ; on le broie avec soin dans un mortier et on obtient une pâte parfaitement homogène.

Dosage de la matière grasse. — On introduit un poids p (2 à 3 grammes) de la pâte précédente dans un tube taré du centrifugeur et on extrait la matière grasse comme dans la méthode officielle (Bordas et Touplain), en épuisant une première fois avec 10 cc. d'alcool et 20 cc. d'éther, et une deuxième fois avec 20 cc. d'éther.

Soit a le poids trouvé, on a :

$$\text{Matière grasse par litre de lait} = \frac{a \times P \times 1000}{p \times V}$$

Dosage de la matière azotée totale. — On introduit dans une fiole de Kjeldahl, en verre d'Iéna, de 300 cc., 25 centimètres cubes de sérum, après avoir amené ce dernier à 500 cc., et un poids P/20 de coagulum, pesé dans une petite capsule en porcelaine. On rince la capsule et le col du ballon avec un peu d'eau bouillante et avec les 20 cc. d'acide sulfurique concentré qui servent à l'attaque. On ajoute 0 gr. 5 de mercure et on chauffe. L'attaque se poursuit sans mousse ni soubresauts. Lorsque l'eau est évaporée et la matière organique dissoute, on ajoute de 12 à 15 grammes de sulfate de potasse et on termine l'attaque. On refroidit, et, sans transvaser, on ajoute 150 cc. d'eau, de la phtaléine et de la soude concentrée pour neutraliser la plus grande partie de l'acide. On refroidit à nouveau et on

ajoute de la soude en excès, puis 5 cc. de sulfure de sodium concentré et un morceau de zinc. On adapte une boule à rectification en verre et on fait barboter, sans réfrigérer, dans 10 cc. d'acide sulfurique normal étendus à 50 cc. dans une fiole conique de 500 cc. On laisse refroidir et on titre.

Soit b le volume de potasse normale employée, on a :

$$\text{Matière azotée par litre} = \frac{(10 - b) \times 0{,}014 \times 6{,}39 \times 20 \times 1000}{V}$$

$$\text{—} \qquad \text{—} \qquad = \frac{(10 - b) \times 1789{,}2}{V}$$

Le même ballon sert à l'attaque et à la distillation, l'auteur ne transvase que lorsqu'il reste à l'attaque un résidu siliceux.

MÉTHODE DE M. A. GASCARD, ROUEN, 1913

M. Gascard, lui aussi, a expérimenté la méthode de MM. Kling et Roy, et en a obtenu des résultats satisfaisants.

Il a jugé pourtant assez pénible son application et a proposé de simplifier le procédé en utilisant la solubilité du coagulum dans l'acide sulfurique (D = 1.825), comme cela se pratique avec l'acido-butyrimomètre de Gerber.

Après essai de quelques dissolvants de la matière grasse, l'auteur a adopté le benzène (benzine cristallisable privée de thiophène). Voici la manière d'opérer :

1° Peser la bouteille bouchée, soit P son poids — la déboucher avec précaution — prendre la réaction du liquide ;

2° Verser la totalité de l'échantillon dans une éprouvette graduée bouchant à l'émeri, soit v le volume qu'il occupe ;

3° Prendre un volume d'acide sulfurique (D = 1.825) sensiblement égal à v (compris entre v et 0,8 v), l'ajouter par fractions dans l'éprouvette, en utilisant cet acide pour rincer la bouteille. Celle-ci complètement vide sera ultérieurement pesée sèche avec son bouchon, soit p le poids obtenu ;

4° Rendre homogène le mélange de lait et d'acide, en imprimant d'abord à l'éprouvette débouchée un mouvement circulaire, car il y a élévation de température et dégagement de gaz ; puis, l'éprouvette bouchée, agiter jusqu'à disparition de toute partie solide. Laisser refroidir pendant deux heures environ ;

5° Ajouter 100 cc. de benzène (pour un échantillon d'un quart de litre), agiter pendant quelques minutes. Laisser au repos jusqu'au lendemain ;

6° Prélever, avec une pipette, 10 cc. de la solution benzénique limpide, les verser dans une capsule tarée (platine, verre, ou porcelaine, mais pas

en nickel), laisser le benzène s'évaporer à l'air, puis mettre à l'étuve une heure au minimum : soit b le poids du résidu abandonné ;

7° Lire le volume V occupé par le mélange acide, en prélever, avec une pipette, 50 cc. que l'on introduit dans un ballon de verre d'Iéna, pour doser l'azote total. Après quelques minutes de chauffe, quand le liquide ne mousse plus, ajouter 5 cc. d'acide sulfurique et un globule de mercure, doser l'azote par la méthode ordinaire, soit a le poids d'azote trouvé pour les 50 cc.

Matière grasse. — La quantité de matière grasse pour la totalité de l'échantillon sera :

$$\frac{b \times 100}{10 - \frac{b}{d}}$$

formule dans laquelle d représente la densité du beurre. L'auteur a vérifié que pour toutes les dilutions, le volume de la solution benzénique est pratiquement la somme des volumes du benzène et de la matière grasse. Admettant 0.90 pour la densité d, la quantité de beurre pour 100 gr. de lait sera donnée par la formule :

$$\frac{b \times 90}{9 - b} \diagdown \frac{100}{\mathrm{P} - p}$$

Pour calculer la teneur en matière grasse du litre de lait, il faut connaître la densité du lait. Le poids (P-p) est bien connu ainsi que le volume v, mais ce volume n'est qu'approximativement connu, parce qu'il y a de la mousse à la surface du lait fermenté et la lecture de v est incertaine. L'auteur a adopté une densité moyenne de 1.033 et le poids de la matière grasse du litre devient :

$$\mathrm{B} = \frac{b \times 90}{9 - b} \times \frac{1033}{\mathrm{P} - p}$$

Matière azotée totale. — Le poids d'azote, étant a pour 50 cc., sera pour un litre de lait :

$$\mathrm{A} = \frac{a \times \mathrm{V}}{50} \times \frac{1033}{\mathrm{P} - p}$$

et le poids de la matière azotée totale : A × 6,39.

Les causes d'erreur (passage d'acide sulfurique et de matière azotée avec la benzine, et passage de matière grasse dans le liquide acide), étudiées de près par l'auteur, ont été reconnues négligeables.

Le procédé a été expérimenté sur des échantillons de lait préparés spécialement. Il a toujours donné d'excellents résultats ainsi que sur des laits bichromatés conservés depuis plus de deux ans.

Quelquefois, ajoute l'auteur, on se trouve en présence d'échantillons peu anciens, non coagulés, analysables par les méthodes classiques, mais dans lesquels il est impossible d'émulsionner complètement la matière grasse, de petits grumeaux de beurre viennent surnager. Dans ces cas, la méthode précédente est utilisable concurremment avec les procédés ordinaires, elle permet de corriger l'erreur qu'entraînerait la mauvaise émulsion du beurre. Voici comment :

La bouteille contenant l'échantillon, aussi bien émulsionné que possible, est pesée (P), on verse le lait dans un entonnoir à décantation ; au bout de quelques instants les grumeaux se sont réunis à la surface, on soutire dans la bouteille la plus grande partie du lait sans entraîner les grumeaux et on la pèse (p). Le poids (P-p) représente ce qui reste dans l'entonnoir à décantation. On traite cette partie par l'acide sulfurique et on y dose la quantité de matière grasse b. D'autre part, on fait par les méthodes ordinaires l'analyse du lait soutiré, on détermine son volume V, sa densité, la quantité B de beurre qu'il contient, etc...

La quantité de matière grasse totale sera :

$$(B + b) \times \frac{1000}{V + v}$$

où v représente le volume du liquide resté dans l'entonnoir. On ne le connaît pas, mais on sait qu'il pèse (P-p), il est donc facile d'en calculer la valeur.

Un entonnoir à décantation gradué donnerait immédiatement v.

LA CONSTANTE DE CONCENTRATION MOLÉCULAIRE SIMPLIFIÉE DANS L'ANALYSE DES LAITS COAGULÉS, M. FONZES-DIACON, 1919

Au cours de l'altération des échantillons de lait, le lactose est un des premiers éléments qui subit une transformation ; sous l'influence des ferments lactiques, il donne naissance à de l'acide lactique, agent de la coagulation.

Mais ces bacilles perdent toute activité lorsque la teneur en acide lactique atteint 7 grammes par litre, proportion qu'on rencontre assez rarement dans un échantillon d'expertise ; de sorte qu'un dosage de l'acidité du petit lait permettra de traduire celle-ci en lactose d'une façon très approchée, c'est-à-dire sans tenir compte des fermentions secondaires qui transforment une faible partie du lactose en d'autres produits ; cette proportion de lactose sera ajoutée à celle qui aura été dosée directement dans le

petit lait par les méthodes usuelles. Il sera, dès lors, facile de doser les chlorures existant dans ce même petit lait, obtenu, dans quelques cas, par simple filtration du lait coagulé, ou, encore, par addition de quelques gouttes d'acide acétique au lactosérum filtré, si sa limpidité n'est pas suffisante.

Ces deux données permettent de calculer la concentration moléculaire simplifiée du petit lait, et de conclure au mouillage si sa valeur est nettement inférieure à 70.

Cette méthode, très rapide, a rendu déjà des services ; elle a même contribué à donner la certitude du mouillage là où l'analyse chimique seule conduisait à un doute.

DOSAGE DU LACTOSE DANS LES LAITS ALTÉRÉS

M. E. HILDT, 1919

Les laits bichromatés destinés aux expertises s'altèrent plus ou moins rapidement suivant la saison ; mais cette altération porte surtout sur le lactose et, si l'on n'en tient pas compte dans l'analyse, on s'expose à trouver des résultats notablement différents pour l'extrait sec à 100° et l'extrait calculé au moyen des éléments dosés, ainsi que pour les extraits dégraissés correspondants. C'est ce qui explique comment, à une diminution quelquefois notable de l'extrait sec à 100° peut correspondre une augmentation apparente du lactose, bien que ce sucre ne puisse qu'avoir diminué par l'action des ferments ou pour d'autres causes.

Cette augmentation apparente du pouvoir réducteur d'un lactosérum ne peut s'expliquer que par l'hydrolyse partielle du lactose, car ce disaccharide, qui cristallise avec une molécule d'eau, peut fixer cette molécule pour former deux monosaccharides plus réducteurs que lui, ainsi que l'a montré directement Ost, en hydrolysant des solutions de lactose pur par les acides minéraux dilués et la chaleur ; ce qui a conduit l'auteur à utiliser comme catalyseurs des sulfonés de la série aromatique, qui permettent d'effectuer sans perte l'hydrolyse complète d'un lactosérum, et, par suite, la détermination cuprométrique exacte du lactose réel qu'il renferme et surtout du lactose total en puissance.

Avant tout, l'auteur donne les valeurs relatives des titres de la liqueur cupropotassique usuelle, en solutions séparées, c'est-à-dire les quantités de lactose hydraté, anhydre, ou dédoublé, nécessaires pour réduire exactement à l'ébullition 10 cc. d'une liqueur cuprique contenant 35 gr. de SO^4Cu, 5 aq. par litre. Pour la commodité du calcul, il désigne les différentes valeurs du lactose par les symboles (L. H.), (L. A.), (L. I.), cette dernière par analogie avec le sucre interverti, désigné habituellement par (S. I.), dont l'usage est commode pour le titrage de la liqueur cupro-alcaline.

Les relations suivantes ont été vérifiées par un grand nombre de dosages:

Sucre interverti (S. I.) = 0.05 = (S. I.) × 1.000 = (L. I.) × 0.976
Lactose hydraté (L. H.) = 0.071 = (S. I.) × 1.425 = (L. I.) × 1.392
Lactose anhydre (L. A.) = 0.0674 = (S. I.) × 1.353 = (L. I.) × 1.307
Lactose hydrolysé (L. I.) = 0.051 = (S. I.) × 1.020 = (L. I.) × 1.000

Pour obtenir un lactosérum dilué au 1/10e et muni de son catalyseur, on verse dans une fiole jaugée de 100 cc., 10 cc. de lait, 3 cc. de métaphosphate de soude à 5 %, 60 à 70 cc. d'eau distillée et 1 cc. d'acide sulfurique normal. Après agitation, on ajoute 10 ou 20 cc. d'un catalyseur renfermant par litre 180 grammes de phénol-sulfonate ou de benzène-sulfonate de soude, et 49 grammes d'acide sulfurique pur ; on complète à 100 cc. le contenu de la fiole jaugée avec de l'eau distillée, on mélange par agitation et on filtre après repos suffisant.

50 c.c. de ce lactosérum filtré sont alors chauffés à 98°-100° pendant 6 ou 8 heures, suivant la proportion du catalyseur, dans une étuve ou dans l'eau bouillante. Cette opération étant faite dans une fiole jaugée, on rétablit, après refroidissement, le volume primitif avec de l'eau distillée, et on rend la solution homogène avant de procéder au titrage cuprométrique qui donne le pouvoir réducteur réel S' du lactosérum, exprimé en (L. I.) de préférence car on obtient ainsi la valeur réelle équivalente du lactose hydraté (L. H.).

On voit par ce qui précède que le pouvoir réducteur d'un lactosérum, incomplètement hydrolysé, n'a aucune signification par lui-même, puisqu'il est dû à l'action de trois sucres réducteurs ; mais la mesure de ce pouvoir réducteur apparent S peut être utile, si on l'exprime également en (L. I.), car il permet de calculer le lactose vrai résiduel et de corriger l'extrait à 100° dans lequel le lactose vrai, seul, perd son eau de cristallisation, tandis que pour le lactose hydrolysé, cette eau s'est fixée sur les monosaccharides formés. La quantité d'eau à ajouter de ce chef à l'extrait n'est pas toujours négligeable.

Si l'on désigne par x la teneur en lactose hydraté, et par y la teneur en lactose inverti pour 100 c.c. de lactosérum, par n le nombre de cent. cubes de ce lactosérum qu'il a fallu pour décolorer 10 c.c. de liqueur cupropotassique avant hydrolyse totale, et par n' le nombre de cent. cubes utilisés après hydrolyse totale, les 100 c.c. de lactosérum renferment en puissance ou en réalité des quantités de (L. I.) représentées par :

$$\frac{100 \times 0.051}{n} \text{ et } \frac{100 \times 0.051}{n'} \text{ ou } \frac{5.1}{n} \text{ et } \frac{5.1}{n'}$$

D'autre part, les x gr. de (L. H.) non hydrolysés représentent $\frac{x}{1.392}$ gr. de (L. I.) en tant que pouvoir réducteur, on peut donc écrire :

$$(1)\ \frac{x}{1.392} + y = \frac{5.1}{n} \text{ et } (2)\ x + y = \frac{5.1}{n'}$$

d'où :

$$x\left(1-\frac{1}{1.392}\right)=5.1\left(\frac{1}{n'}-\frac{1}{n}\right)=5\,1\,\frac{n-n'}{n\,n'}$$

$$x=\frac{1\,392}{0.392}\times 5.1\,\frac{n-n'}{n\,n'}$$

$$x=18.11\times\frac{n-n'}{n\,n'}$$

Connaissant x, on peut tirer $y=\frac{5.1}{n'}-\frac{18\,11}{n'}+\frac{18.11}{n}$

$$y=\frac{18.11}{n}-\frac{13.01}{n'}$$

Pour que y soit positif, il faut que l'on ait toujours :

$$\frac{18.11}{n}>\frac{13.01}{n'}\text{ ou }\frac{n}{n'}<\frac{18.11}{13}\text{ ou }n<1.392\,n'$$

Quant à x, il faut que n' soit $< n$, ce qui est évident, le pouvoir réducteur du lactose inverti étant plus grand que celui du lactose hydraté. Pour un lait normal : $n=n'\times 1.392$ et $y=0$. Pour un lait qui serait complètement hydrolysé, $n=n'$ et $x=0$.

Le seul intérêt qu'il y ait à connaître y, c'est que le lactose hydrolysé qu'il représente ne peut plus perdre son eau à 100°, tandis que x qui représente le lactose hydraté, peut perdre

$$x\times\frac{18}{360}$$

ou $x\times 0.05$ d'eau dans l'extrait sec à 100°.

APPLICATION AUX LAITS ALTÉRÉS DU DOSAGE DU LACTOSE EN PRÉSENCE D'AUTRES SUCRES RÉDUCTEURS — DE M. LE GRAND, 1921

Pour doser le lactose dans les laits altérés, où ce sucre subit souvent une hydrolyse partielle en glucose et galactose, l'auteur a employé la liqueur de Barfœd. C'est une solution d'acétate neutre de cuivre dans de l'eau légèrement acidulée par de l'acide acétique (1 partie d'acétate neutre de cuivre dans 15 parties d'eau, dont on prend 200 c.c. pour ajouter à ceux-ci 5 c.c. d'acide acétique à 38 %). Elle a la propriété de n'être pas réduite par les bioses (lactose, maltose), tandis que les monoses (glucose, lévulose,

galactose) la réduisent en donnant un précipité d'oxydule de cuivre. En recueillant cet oxydule sur un filtre ordinaire et en déterminant son poids par la méthode volumétrique de M. Gabriel Bertrand, l'auteur peut connaître les quantités correspondantes de monoses.

Par différence entre la somme des monoses et des bioses, déterminée par la liqueur de Fehling, et la quantité des monoses ainsi obtenue par la liqueur de Barfœd, il calcule ensuite le chiffre de lactose.

Mode opératoire. — Siében, pour doser le glucose en présence de maltose, chauffait la solution d'acétate de cuivre et de sucre en vase scellé, au bain-marie à 40°, pendant 3 jours. Il évitait ainsi la précipitation d'un sel basique et la difficulté de détacher l'oxydule de cuivre du verre.

L'auteur a préféré opérer plus rapidement pour se placer dans des conditions toujours semblables et obtenir des résultats comparables.

1° Dans une fiole conique de 150 c.c. environ, on introduit 5 c.c. de solution sucrée (contenant au plus 0ᵍ100 de sucres réducteurs) et 15 c.c. de liqueur de Barfœd ;

2° On chauffe jusqu'à l'ébullition que l'on maintient exactement trois minutes ;

3° On filtre le liquide, sans le laisser refroidir, sur un filtre plat ordinaire, en évitant autant que possible d'entraîner l'oxydule de cuivre ;

4° Suivant les indications de M. G. Bertrand, on dissout l'oxydule de cuivre dans une solution de sulfate ferrique. On fait passer tout le liquide sur le filtre pour dissoudre l'oxydule qui pourrait s'y trouver ; le filtrat est recueilli ;

5° On dose dans le filtrat la quantité de sulfate ferrique transformée en sulfate ferreux par l'oxydule de cuivre, à l'aide d'une solution titrée de permanganate (1 c.c. de permanganate correspondant environ à 6 milligrammes de cuivre).

Une table des poids de cuivre obtenus par des quantités déterminées de sucre, permet ensuite de calculer le poids de sucre obtenu dans la liqueur à analyser.

La liqueur de Barfœd offre certainement l'avantage de donner immédiatement la quantité de glucose et de galactose, sans avoir recours à une hydrolyse complète du lactose. Si l'on obtient d'une part le poids de cuivre précipité dans cette liqueur par des quantités connues de glucose et de galactose, mélangées en mêmes proportions, et, d'autre part, si l'on trouve par la liqueur de Fehling combien de glucose correspond au lactose non hydrolysé, on calcule facilement la quantité de lactose anhydre, en multipliant celle-ci par le coefficient 1.353. Pour plus de facilité, il est nécessaire d'établir une table des poids de cuivre obtenus par des quantités déterminées de glucose et de galactose, dans une solution d'acétate de cuivre à concentration favorable (15 cm³ d'acétate pour 5 cm³ de solution sucrée).

L'auteur a vérifié l'exactitude de sa méthode à l'aide du pouvoir rotatoire, et en a obtenu des résultats excellents.

Remarque. — Pour ces dosages, il faut éviter de se placer dans les conditions où il se forme un précipité de sel basique (départ de l'acide acétique par ébullition prolongée — présence de sels alcalins ou alcalinoterreux).

En maintenant l'ébullition seulement 3 minutes, l'auteur n'a constaté aucun précipité et a trouvé que la perte en acide acétique n'était que de 4 %.

D'autre part, l'auteur, après de nombreux essais, a observé que la concentration en sels alcalins ou alcalinoterreux la moins défavorable, était 1 pour 1000 au maximum, pour ne pas avoir de précipitation de sel basique.

Le lait de vache contient, entre autre sels, plus de 3 p. 1000 de chlorure de sodium ; la concentration en sels alcalins ou alcalinoterreux dans ce liquide est donc assez forte. Dans les applications faites sur les laits altérés, conservés au bichromate, l'auteur a pu doser facilement le lactose hydrolysé en diluant les liqueurs de moitié ou du tiers, pour obtenir une concentration peu élevée en sels alcalins.

Les laits bichromatés analysés étaient dilués de la manière suivante : après les avoir déféqués au bisulfate de mercure, l'auteur précipitait l'excès de bisulfate par addition d'eau de baryte, en telle quantité que la liqueur se trouvait diluée de moitié ou du tiers. L'excès de baryte était ensuite précipité par un courant de gaz carbonique. Dans ces conditions, la concentration en sels alcalins ou alcalinoterreux du lait était amenée à un taux égal ou inférieur à 1 pour 1000 ; et l'auteur précipitait le chrome par la baryte, à l'état de chromate de baryum ou d'hydrate de chrome, suivant le degré d'altération du lait.

MÉTHODE DE M. ANDOYER 1921

L'auteur part de ce principe que le coagulum, constitué par les matières albuminoïdes, la matière grasse et les éléments minéraux insolubles, nage dans un sérum contenant les sels minéraux solubles, le lactose, et divers composés provenant de l'altération de la caséine.

Il a observé que le dosage de l'azote du coagulum, après élimination de la matière grasse et déduction des éléments minéraux qu'il contient, donne d'une façon constante le chiffre 0,156, teneur en azote de la caséine. Il suffit donc, au lieu de doser l'azote, de peser le coagulum après élimination du beurre et d'en déduire le poids des sels. Cela simplifie la méthode de MM. Kling et Roy et permet de déterminer un élément de plus : les cendres.

Mode opératoire. — L'échantillon est rendu légèrement acide par l'acide

acétique, puis filtré sur filtre taré ; on lave à l'eau distillée ; on détermine, sur des portions du filtratum :

1° Les cendres, par dessiccation et incinération ;

2° Les matières albuminoïdes que l'altération a solubilisées, par la méthode de Kjeldahl, et multipliant le chiffre d'azote par 6.39.

D'autre part, on épuise à l'éther le coagulum desséché, afin d'enlever la matière grasse. Le coagulum est ensuite débarrassé d'éther, puis pesé et incinéré. Ces diverses opérations permettent de déterminer les chiffres du beurre, de la partie de caséine pouvant être considérée comme non altérée et des cendres insolubles.

Ces résultats et ceux obtenus avec le sérum filtré donnent la teneur en beurre, en caséine et en cendres du lait mis en œuvre, et par suite, la possibilité d'en calculer le mouillage et l'écrémage.

Les résultats obtenus ainsi par M. Andoyer concordent avec ceux donnés par la méthode de MM. Kling et Roy pour un même lait.

CHAPITRE SECOND

QUELQUES APPRÉCIATIONS SUR LES MÉTHODES EXPOSÉES. NÉCESSITÉ D'UNE MÉTHODE PLUS COMPLÈTE

Du long exposé qui précède se dégage ce fait que les manières de procéder sont très différentes en Angleterre et en France. Alors que le Service des Fraudes de l'Etat anglais n'additionne le lait d'aucun antiseptique ou conservateur, le Service français pratique l'addition de bichromate de potassium. En outre, les laboratoires anglais analysent les échantillons de façon plus complète, en ce sens qu'ils prennent comme base de leurs appréciations le beurre et les « solides non beurre » qui correspondent à notre extrait sec dégraissé, ce dernier élément reconstitué après dosages des acides volatils et de l'alcool éthylique formés aux dépens du lactose. En France, il semble qu'on se soit borné uniquement à rechercher les éléments qui restent en totalité dans les échantillons de lait en dépit de l'altération, et à en tirer des conclusions pratiques. Les divers procédés donnés avant la guerre ont tous pour point de départ les deux dosages de la matière grasse et de la matière azotée totale ; ce sont en somme des modes opératoires différents d'une même méthode. Quant à ceux proposés postérieurement à la guerre, ce ne sont pas, à proprement parler, des méthodes d'analyse, mais la détermination de certains éléments analytiques, donnant des renseignements souvent précieux, comme la constante de concentration moléculaire simplifiée, ou apportant quelque précision dans les modes opératoires admis jusqu'alors, comme le dosage du lactose de M. Hildt et celui de M. Le Grand.

Les méthodes pratiquées en France présentent néanmoins l'avantage sérieux de s'adresser à des échantillons de lait plus profondément altérés et de permettre par conséquent l'analyse au bout d'un temps beaucoup plus long.

De la méthode de M. A. Dubois nous dirons qu'elle était faite pour des échantillons peu altérés quoiqu'en fermentation lactique, en tout cas homogénéisables. Appliquée à un lait coagulé, l'auteur le dit lui-même, elle ne donnerait aucun résultat convenable, en raison de la transformation plus complexe du lactose et de la caséine. Un point nous surprend cependant, c'est que l'auteur ajoute au poids de l'extrait sec à 100°, la quantité d'acide lactique dosée par acidimétrie.

Dans l'état des connaissances de l'époque (1900) cela a pu sembler na-

turel, mais nous n'admettons pas que l'acide lactique disparaisse à l'évaporation. Ici s'est produite une coïncidence qui a conduit l'auteur à une conclusion erronée.

Le procédé anglais, avouons-le, est le plus complet de tous ceux proposés jusqu'ici. Les longues considérations qui l'accompagnent, touchant les altérations des divers éléments du lait, sont pour nous une source précieuse à laquelle nous reviendrons au cours de ce travail. Malheureusement, le procédé devient inapplicable dès que le lait n'est plus homogénéisable, et il n'a pas été fait pour des échantillons additionnés de bichromate de potassium. Nous en retiendrons néanmoins les dosages des acides volatils et de l'alcool éthylique que nous serons amené à pratiquer aussi, mais auxquels nous donnerons une interprétation toute différente, du moins en ce qui concerne les acides volatils.

Quant aux procédés de MM. Kling et Roy, Ronnet, Dubosc, Gascard, tous quatre intéressent, avec des modes opératoires différents, l'analyse des laits profondément altérés. Les procédés Ronnet et Dubosc sont des variantes de celui de MM. Kling et Roy, variantes qui ne sont pas sans intérêt puisqu'elles conduisent, plus vite peut-être, au résultat cherché. Le procédé de M. Gascard, tiré d'un principe différent, a l'avantage d'être beaucoup plus rapide sans rien perdre de sa précision.

L'application de la constante de concentration moléculaire simplifiée aux laits coagulés, préconisée par M. Fonzes-Diacon, a pu donner d'excellents résultats dans bien des cas, mais l'auteur ne tient aucun compte du dédoublement du lactose, par conséquent ses chiffres de lactose sont en général trop élevés ; de là une tendance à trouver normaux des laits qui ne le sont pas.

Les travaux de M. Hildt et le dosage qu'il a proposé pour le lactose sont venus remédier fort heureusement à cet inconvénient. La connaissance des proportions de lactose vrai et de lactose dédoublé permet non seulement de rétablir le chiffre exact d'extrait sec à 100° dans les laits homogénéisables, mais encore de reconstituer le lactose vrai total d'un lait coagulé, par suite, sa concentration moléculaire simplifiée, d'une manière plus exacte.

Notons enfin que le dosage du lactose proposé deux ans plus tard par M. Le Grand, au moyen de la liqueur de Barfœd, conduit au même résultat, avec en moins les ennuis de l'hydrolyse totale par les sulfonés de la série aromatique. Au cours de notre travail nous n'en parlons pas, nous citons uniquement le dosage de M. Hildt, parce que nous l'avons seul mis en pratique, celui préconisé par M. Le Grand n'étant paru que lorsque nos essais étaient déjà avancés.

Tel était l'état de la question des laits altérés, lorsqu'au début de l'année 1921, nous avons été appelé, par le Parquet de Tunis, à expertiser des échantillons de lait parfois très altérés, en tout cas complètement coagulés, bien que n'ayant pas même six mois d'existence.

Nous avons d'abord opéré comme nous le faisions en France, avant la

guerre, en pratiquant sur ces échantillons le dosage des deux éléments susceptibles d'être retrouvés en entier, matière grasse et matière azotée totale. Nous pensions ainsi reconnaître le mouillage et en calculer la proportion ; mais les chiffres obtenus nous ont déconcerté. Nous avons eu de suite l'impression que les éléments en notre possession n'étaient pas suffisants pour nous permettre d'étayer une conviction solide. Voici pourquoi :

En France, on a pu établir, dans chaque région, des moyennes stables et des minima pour ainsi dire immuables pour chaque élément du lait. Il s'en suit que, sur un lait coagulé, les seules déterminations du beurre et de la matière azotée totale permettent, dans beaucoup de cas tout au moins, de déceler et de calculer le mouillage, ou l'écrémage, ou les deux à la fois. De même, la détermination de la concentration moléculaire simplifiée, à la condition toutefois de partir d'un chiffre de lactose reconstitué par le procédé de M. Hildt, donne un résultat des plus concluants.

En Tunisie, les choses sont différentes. Les quantités de lait produites sont tout à fait anormales et inconstantes, ainsi que les proportions des divers éléments qui le composent, étant donné le régime alimentaire très précaire auquel sont soumis les animaux en tout temps, mais surtout à la saison sèche et par une année sans eau (année 1920). Une vache laitière, importée de France, ne tarde pas à donner, par jour, un volume de lait environ moitié de sa production normale, production à laquelle elle ne reviendra plus ensuite. Ces laits, si peu abondants, sont souvent très riches en matière grasse et en matière azotée ; et il n'est pas rare de trouver 70, 80, jusqu'à 90 gr. de beurre et aussi 40 à 45 gr. de caséine par litre de lait. Par contre, le taux du lactose demeure sensiblement normal. Avec de tels laits, s'il n'est possible de déterminer, lors d'une expertise tardive, que le beurre et la matière azotée, sans le secours d'une analyse de comparaison, comment déceler le mouillage ?

En France, avec 32,5 de caséine, on hésitera, on ne pensera pas même, la plupart du temps, à conclure à l'addition d'eau. En Tunisie, avec le même chiffre, on pourra constater un mouillage de 25 pour 100. Nous avons eu l'occasion de voir un lait frais mouillé à 19 p. 100 avec 38 gr. de caséine, un autre mouillé à 20 p. 100 avec 60 gr. de beurre. Ces exemples sont fréquents. En pareils cas, l'extrait dégraissé rectifié et la concentration moléculaire simplifiée accusaient très nettement le mouillage. Mais après six mois de conservation, à quelle conclusion auraient pu mener les seuls dosages du beurre et de la matière azotée dans ces laits ? Nous, expert, n'aurions eu comme ressource qu'à nous en rapporter aux chiffres donnés précédemment par le Laboratoire des Fraudes, chiffres qu'il nous est permis de consulter dans le dossier de l'affaire. Mais alors à quoi sert notre expertise, si nous ne sommes à même de conclure que sur les chiffres d'une analyse étrangère !

Il nous serait possible, aussi, dira-t-on, au lieu de pratiquer les dosages de matière grasse et de matière azotée, de déterminer la concentration

moléculaire simplifiée sur le lactosérum, avec dosage du lactose après hydrolyse totale ; nous aurions là une indication très précieuse dans bien des cas. Mais la C. M. S. est-elle toujours la fidèle indicatrice du mouillage ? Nous ne le pensons pas, pour la raison suivante :

En Tunisie, les laitiers vendent assez fréquemment comme laits de vaches des mélanges de lait de vaches et de lait de chèvres. Or le lait de chèvres présente une concentration moléculaire simplifiée normalement supérieure, parfois même très supérieure à 80 ; on conçoit que son mélange avec le lait de vaches élève la concentration moléculaire de ce dernier et que cette concentration puisse, après mouillage, demeurer sensiblement au niveau du minimum exigé pour le lait de vaches (74 en Tunisie).

Et, en effet, il arrive parfois que le calcul du mouillage, par la concentration moléculaire, nous donne un chiffre bien inférieur à celui fourni par les autres éléments.

La C. M. S., dans ce cas, n'est plus une indication suffisante.

Ainsi donc aucun des procédés employés en France ne nous donne satisfaction en Tunisie, dans le cas des laits coagulés, isolés, bien entendu.

Telles sont les raisons qui nous ont déterminé à rechercher un procédé d'analyse qui nous permette de dire avec certitude, et sans le moindre secours étranger, si un lait altéré, coagulé, est ou n'est pas mouillé. Nous verrons dans le chapitre suivant comment nous y sommes parvenu.

CHAPITRE TROISIÈME

ÉTABLISSEMENT DE LA MÉTHODE

Après examen minutieux des différentes techniques proposées pour l'analyse des laits altérés, et des éléments que chacune d'elles pourrait nous fournir, nous nous sommes arrêté à celle de notre Maître, M. Gascard, qui présente l'avantage d'être expéditive. Pour cette raison et aussi parce que nous l'avions souvent pratiquée sous la direction de son auteur, à Rouen, nous lui avons donné la préférence pour servir de point de départ à notre travail. Au surplus, c'est bien celle qui se prête le plus aisément à la combinaison nouvelle dont nous parlerons plus loin.

Nous tirons parti également de l'application aux vieux laits de la constante de concentration moléculaire simplifiée, de M. Fonzes-Diacon, mais nous nous sommes vite rendu compte que l'adjonction du dosage du lactose par hydrolyse totale de M. Hildt, était une nécessité.

Nous avons donc puisé aux travaux de MM. Gascard, Fonzes-Diacon et Hildt, et nous avons eu l'idée, au moyen d'une combinaison particulière, de les appliquer simultanément à un même échantillon.

Principe de la méthode. — La coagulation fait des échantillons deux parts bien distinctes, le coagulum et le lactosérum. Des éléments du lait, il n'en est qu'un qui se partage entre les deux, c'est la caséine. Les autres se retrouvent intégralement, soit dans le coagulum, soit dans le lactosérum. Mettant à profit cette observation, nous divisons l'échantillon à analyser en deux parties, sur chacune desquelles nous devrons doser la matière azotée pour additionner ensuite les résultats.

Nous séparons de l'échantillon total un volume connu et exact v de lactosérum limpide (en chiffre rond les 2/5^e du volume total V). Ce lactosérum contient, uniformément répartis dans sa masse, les éléments solubles du lait : lactose plus ou moins transformé, matière azotée non coagulée, chlorures, etc., mais pas de matière grasse.

A. — Sur ces v centimètres cubes de lactosérum nous dosons successivement, en opérant sur des portions différentes :

1° *La caséine restée en solution*, par azote total, (chiffre pour les v cent. cubes) ;

2° *L'acidité totale* que nous exprimons en acide lactique, (chiffre par litre de lactosérum) ;

3° *Le lactose avant hydrolyse* (1), par le procédé de M. G. Bertrand, (chiffre par litre de lactosérum) ;

4° *Le lactose après hydrolyse totale*, (chiffre par litre de lactosérum) ;

5° *Les chlorures*, exprimés en NaCl, (chiffre par litre de lactosérum).

B. — Dans le reste de l'échantillon (V — *v*) centimètres cubes, se trouvent : la totalité de la matière grasse, la portion de caséine coagulée, et, en plus, le lactosérum en excès des *v* cent. cubes, avec les éléments solubles qu'il contient, dont la matière azotée. Les (V — *v*) cent. cubes sont traités par la méthode de M. Gascard, qui nous donne le *beurre total* et le *reste de la matière azotée* (chiffre pour (V — *v*) centimètres cubes).

Il n'y a plus qu'à additionner les deux chiffres de matière azotée pour avoir le chiffre correspondant à l'échantillon total, et calculer le résultat par litre de lait. Nous ramenons également au litre de lait les chiffres de lactose et de chlorures qui ont été calculés par litre de lactosérum. Pour cela nous faisons l'opération inverse de celle faite lors du calcul de la C. M. S. réelle au moyen de la C. M. S. apparente ; nous divisons par un facteur établi en raison du chiffre total de beurre et du chiffre de caséine insolubilisée, la caséine restée soluble n'ayant pas à entrer ici en ligne de compte.

Dans le calcul ultérieur de la C. M. S. réelle, nous tiendrons compte naturellement de la totalité de la caséine, le facteur ne sera plus le même.

Nous sommes alors en possession des éléments suivants :

1° Matière grasse	par litre de lait.
2° Lactose hydraté	id.
3° Caséine totale	id.
4° Chlorures en NaCl	id.
5° C. M. S. réelle	id.

Muni de la méthode, il ne nous restait plus qu'à nous procurer des laits altérés. Nous les avons trouvés au Greffe du Tribunal correctionnel de Tunis, où nous ont été remis tous les échantillons concernant des affaires jugées ou classées. Nous en avions de tout âge, de sept mois à un an. Certains étaient en double et accompagnés de l'échantillon de comparaison. Enfin nous avions la possibilité d'un contrôle de nos résultats au laboratoire des Fraudes, où tous ces laits avaient été analysés à l'état frais.

Expérimentation et développement de la méthode. — Une première analyse, faite sur un échantillon vieux de 10 mois, nous donnait un résultat très encourageant ; le chiffre de lactose, comme ceux de beurre et de matière azotée, concordait presque exactement avec celui des Fraudes.

(1) Le dosage du lactose avant hydrolyse ne nous est pas indispensable; nous l'avons pratiqué sur presque tous nos échantillons pour nous rendre compte de l'état de décomposition du lactose restant, aux différents âges du lait.

Nous avons entrepris alors une série d'analyses sur des laits de 10, 11 et 12 mois. Nous avons eu la désagréable surprise de constater que si nos chiffres de beurre et de matière azotée étaient toujours concordants, par contre ceux de lactose ne l'étaient plus, nous avions des écarts de 2 et 3 grammes jusqu'à 5 grammes de lactose par litre.

C'était donc le lactose reconstitué par l'hydrolyse totale, additionné du chiffre d'acide lactique en excès, qui nous donnait une telle différence ! Nous ne pouvions plus reconnaître un lait normal d'un lait mouillé.

Nous avons pensé que cet écart dans nos résultats pouvait provenir d'une décomposition plus avancée du lactose, décomposition qui n'avait pas eu lieu dans notre premier échantillon analysé. Et c'est ici que nous allons recourir aux travaux des laboratoires d'Etat anglais.

M. Ed. Thorpe a démontré la présence, dans les laits aigris :

1° D'une petite quantité non négligeable d'alcool éthylique, avec des traces d'alcools supérieurs ;

2° D'acides volatils : acétique, butyrique et peut-être aussi propionique.

A plus forte raison, ces divers corps doivent exister dans des laits d'altération plus avancée. Nous ne retiendrons que ceux qui sont capables de nous donner une réelle différence dans le cours de nos analyses : l'alcool, l'acide acétique et aussi l'acide butyrique.

Nous avons donc fait une nouvelle série d'analyses en adjoignant cette fois à notre méthode les dosages de l'alcool et des acides volatils sur le lactosérum, dont voici le principe : La même prise d'essai peut servir aux deux dosages.

Nous distillons un volume donné de lactosérum de façon à en recueillir les trois quarts. Une portion du distillat est additionnée de NaOH N/10, en présence de tournesol, jusqu'à virage net au bleu. Le liquide alcalin obtenu est soumis à deux distillations successives qui nous donnent un liquide à faible degré alcoolique, où nous titrons l'alcool au moyen de la pipette de Duclaux (1). Connaissant le degré alcoolique de notre liquide et, par suite, celui du lactosérum essayé, nous calculons la quantité d'alcool en poids par litre de lactosérum. Ici nous admettons qu'un litre de liquide alcoolique de si faible degré pèse un kilogramme. Nous négligeons la correction infime qui pourrait résulter de cette légère erreur en trop sur le poids du litre. Elle est certainement inférieure aux erreurs d'expérience.

Enfin nous transformons la quantité trouvée d'alcool en lactose hydraté d'après la relation suivante donnée par M. Thorpe :

$$\text{lactose hydraté} = \text{alcool} \times \frac{90}{46}$$

Pour les acides volatils, nous avons constaté que généralement ils exis-

(1) Duclaux E. — *Traité de Microbiologie*. Paris, Masson et C^ie^, *1900* (t. 3, p. 6-9, — Recherche de quantités très petites d'alcool).

tent en faible quantité dans le lactosérum. D'ailleurs, le plus important d'entre eux, l'acide acétique (poids moléculaire = 60), se trouve dosé dans l'acidité totale à l'état d'acide lactique (poids moléculaire = 90) ; l'erreur dûe à sa présence est en fait corrigée d'elle-même. En effet, une molécule d'acide acétique peut provenir directement d'une molécule d'acide lactique par oxydation,

$$\underset{[90]}{CH_3 - CH.OH - CO_2H} + O_2 = \underset{[60]}{CH_3 - CO_2H} + CO_2 + H_2O$$

L'acide lactique représentant poids pour poids le lactose hydraté dont il provient, 60 d'acide acétique représentent bien 90 d'acide lactique et, par suite, 90 de lactose hydraté.

Une molécule d'acide acétique peut encore provenir d'une molécule d'alcool, également par oxydation.

$$\underset{[46]}{CH_3 - CH_2OH} + O_2 = \underset{[60]}{CH_3 - CO_2H} + H_2O$$

Etant donné que 46 d'alcool proviennent invariablement de 90 de lactose hydraté, 60 d'acide acétique représentent encore bien 90 de lactose hydraté.

Dans la nouvelle série d'essais entreprise, nous n'avons donc pas tenu compte des acides volatils. Certains de nos échantillons avaient atteint 15 et 16 mois. Cette fois, nous avons obtenu des résultats satisfaisants, avec toutefois une légère différence en moins pour certains laits. (Voir tableau page 49).

C'est alors que nous nous sommes décidé à pratiquer le dosage de l'acide butyrique ; l'erreur qui résulte de sa présence peut n'être pas négligeable, comme nous allons le voir. En effet :

Une molécule d'acide butyrique (poids moléculaire = 88), provient de deux molécules d'acide lactique (90 × 2 = 180).

$$2\ \underset{[180]}{CH_3 - CH.OH - CO_2H} = \underset{[88]}{CH_3 - CH_2 - CH_2 - CO_2H} + 2\ H_2 + 2\ CO_2$$

et lorsque cette molécule se trouve dosée avec l'acidité totale, à l'état d'acide lactique, elle ne l'est que pour une molécule (90) ; de ce fait nous perdons, pour 88 d'acide butyrique, 180 — 90 = 90 d'acide lactique, et par suite 90 de lactose hydraté.

En d'autres termes, nous perdons la moitié du poids de lactose correspondant à la quantité d'acide butyrique existante.

En général, si l'acidité volatile est faible, jusqu'à 1 gramme par litre, il n'y a pas lieu de se livrer au dosage de l'acide butyrique, mais l'acidité volatile peut s'élever bien au delà de 1 gramme, nous avons constaté le fait sur des échantillons dont le bouchon s'était soulevé sous la pression des gaz de fermentation, avait laissé suinter un peu de matière grasse et permis, sans doute, la rentrée de l'air. Il suffit encore pour celà que la bouteille contenant l'échantillon ne soit qu'à moitié remplie, que le lait soit emprisonné avec un grand volume d'air. En pareils cas, nous avons obtenu jusqu'à 5 grammes d'acides volatils, dont 1 gr. 50 d'acide butyrique, par litre de lactosérum, ce qui correspond à une perte en lactose hydraté de

$$1.5 \times \frac{90}{88} = 1.53$$

par litre.

Le dosage de l'acide butyrique a été indiqué par M. Thorpe dans son mémoire. Nous le pratiquons d'après le principe suivant :

Nous distillons une quantité de lactosérum un peu plus considérable pour doser l'alcool et nous en recueillons les trois quarts, que nous complétons au volume primitif avec de l'eau distillée. Une portion de ce liquide est neutralisée exactement par la soude N/10, puis redistillée pour avoir l'alcool. Nous avons ainsi l'acidité du distillat. Nous saturons une nouvelle portion du liquide, non plus avec de la soude, mais avec de la baryte décinormale, et nous l'évaporons à sec et pesons le résidu. Du poids de baryte mise en œuvre et de celui des sels de baryte formés, nous déduisons les poids d'acides acétique et butyrique en présence dans la prise d'essai, puis dans tout le distillat. En nous reportant à la première table donnée par Duclaux (1) dans son travail sur le dosage des acides volatils par distillation fractionnée, nous savons par quels facteurs nous devons multiplier nos résultats pour avoir les chiffres réels d'acides acétique et butyrique existant dans le lactosérum.

Ainsi donc, pour rétablir le chiffre de lactose hydraté réel, existant dans le lait avant son altération, nous sommes amené à additionner :

1° Le chiffre de lactose hydraté obtenu après hydrolyse totale ;

2° Le chiffre d'acidité lactique corrigé ;

3° Le chiffre de lactose hydraté correspondant à l'alcool trouvé ;

4° Enfin, s'il y a lieu, la moitié du chiffre de lactose hydraté correspondant à l'acide butyrique dosé.

C'est ce chiffre total, chiffre par litre de lactosérum, qui sera ramené au litre de lait, comme il a été indiqué précédemment.

(1) Duclaux E. — *Traité de Microbiologie*. — Paris, Masson et C^ie^, *1900* (t. 3, p. 384-395. — Dosage des acides volatils).

DÉSIGNATION	AGE	Acidité lactique corrigée	Matière grasse	Lactose après hydrolyse	Alcool	Acide acétique	Acide butyrique	Lactose reconstitué	Caséine totale	Caséine du sérum	E. D. R. déminéralisé	Mouillage	Observations
90 — 13 mai 21	10 mois	14.25	36.40	31.20	»	»	»	42 87 (42.5)	33.1	»	79.08	9.8 (10)	Les chiffres placés entre parentheses indiquent les résultats correspondants du laboratoire des Fraudes
194 — 5 juin 21	52 jours	2.10	30.1 (30)	39.13	»	»	»	41 22 (43)	33	»	»	10	
103² — 19 juillet	13 mois	13.35	40.5 (39.5)	30.04	0.994	»	»	42.84 (43)	34.35	20.66	80.97	7.6 (6)	
194² — 19 septembre 21	5 mois	0	29 (30)	39.93	1.490	»	»	41.2 (43)	33.25	21.29	78.37	10.7	
338 — 10 octobre	65 jours	5.7	35.1	34.23	1.490	»	»	40.95 (?)	31.57	»	75.40	14	
90² — 17 octobre	16 mois	15 15	36.19	26.62	1.987	»	»	43.23 (42.5)	33.5	17.35	79.74	9 (10)	
122² — 20 octobre	15 mois et 15 jours	15.15	36.97 (36)	33.60	0.994	»	»	48.14 (45)	37.33	22.63	88.88	N (8)	
151² — 28 octobre	15 mois et 15 jours	23.7	36.53 (36)	18.36	1.987	»	»	43.86 (44.5)	29.40	17.35	79.32	9.5 (8)	
108² — 3 novembre	16 mois	13.8	25.87 (26)	25.09	2.484	»	»	41 8 (42)	27.37	14.7	71.27	15.7 (15)	
172 — 7 novembre	15 mois	29.28	37.6 (37)	13.77	1.987	»	»	44.7 (47)	36.3	25.49	84.22	4 (?)	
183 — 16 novembre	15 mois et 3 jours	21.9	43 9 (43.5)	13.87	2.484	»	présence	38.6 (39)	35.06	25.15	77.34	11.7 (12)	
183¹ — 22 novembre	15 mois et 9 jours	22.08	»	15.81	1.490	4.24	1.517	40 (40)	»	»	78.91	10 (12)	
188² — 24 novembre	15 mois	20.82	36.97 (38)	10.32	8.446	7.135	1.512	46.48 (47.5)	33.71	18.14	83.22	5.1 (?)	
175² — 29 novembre	15 mois et 15 jours	24.78	37.42 (36)	25.85	1.987	»	»	51.6 (50.5)	40.93	28.17	96.3	N	
172² — 7 février 22	18 mois	16 95	37.23 (37)	26.67	0.994	»	»	43.6 (47)	36.13	27.37	82.99	5 (?)	
252 — 6 mars 22	17 mois	29.01	»	9.48	6.293	3.06	1.660	50.2	»	»	»	N	
252² — 21 mars 22	17 mois et 16 jours	26.04	»	10.04	7.950	1.41	3.52	50.99	»	»	»	N	
240² — 26 juin 22	21 mois	24.96	43.47	7.93	1.9875	4.38	2.04	36.83 (38)	30.90	19.54	71.18	18.6 (15)	
53 — 29 janvier 23	2 ans, 8 m. et 6 j.	26.86	24.71	12.44	3.975	1.39	0.232	44.57 (46)	35.57	20.48	82 30	6 (?)	
53² — 31 janviev 23	2 ans, 8 m. et 8 j.	23.97	25	11.73	4.968	0.847	0.628	44.32 (46)	35 6	19.41	82.15	6 (?)	
89² — 5 février 23	2 ans, 7 m. et 24 j.	12.45	38.32	22.95	4.968	1.156	0.458	43.32 (42.5)	32.80	24.6	79.54	9 3 (10)	

Ne voulant pas nous en tenir à la comparaison de nos chiffres avec ceux du laboratoire des Fraudes, et pour donner plus de valeur aux résultats obtenus, nous avons nous-même préparé, avec un lait que nous avons analysé à l'état frais, des échantillons, normaux et mouillés à des taux de 5, 10 et 15 p. 100.

Nos mouillages et la mise en bouteilles ont été faits dans l'heure qui a suivi la traite. Chaque échantillon a reçu une quantité de bichromate de potassium voisine de 1 gramme par litre.

Tous ces échantillons ont été placés à l'obscurtié dans un placard, le même jour, 12 janvier 1922.

Deux mois après (mi-mars), nous avons fait l'analyse des quatre échantillons ; ils n'avaient pas changé, à part une très légère acidification. Il faut dire que durant ces deux mois, la température du placard n'était pas montée au-dessus de 12 degrés.

Six mois après (mi-juillet), nos échantillons étaient apparemment altérés, mais la coagulation incomplète. La mise en flacons avait été faite dans des conditions de propreté trop rigoureuses.

Enfin, un an après (mi-janvier 23), la coagulation paraissant parfaite, nous avons entrepris l'analyse d'un certain nombre des échantillons préparés. Ils contiennent tous une notable proportion d'alcool, mais ne sont encore qu'au début de la fermentation butyrique. Pour nombre d'entre eux nous n'avons pu pratiquer le dosage des acides acétique et butyrique. (Voir tableau page 51).

Interprétation des résultats. — Nous avons en main les chiffres des principaux éléments du lait avant son altération. Il s'agit à présent d'en tirer une interprétation.

Nous ne pouvons prétendre reconstituer l'extrait dégraissé puisque le chiffre des cendres nous manque.

Si nous considérons pourtant que ce chiffre varie peu d'un lait à l'autre (nous parlons de laits normaux bien entendu), nous pouvons prendre comme base de nos appréciations l'extrait dégraissé rectifié diminué de ce chiffre. Le taux des matières minérales varie de 7 à 8 grammes pour les laits reconnus normaux à Tunis ; nous prendrons comme minimum fixe 7.

Dans le minimum admis pour l'extrait dégraissé rectifié, soit 95 pour Tunis, les matières minérales entrent pour leur minimum respectif, minimum rectifié aussi, facile à établir en raison du taux de la matière grasse du lait, et pouvant aller de 7 grammes pour zéro de beurre, à 7,49 pour 60 de beurre et plus pour un beurre supérieur à 60 grammes.

Nous prendrons donc comme point de comparaison *l'extrait dégraissé rectifié minimum déminéralisé*, obtenu en retranchant de l'extrait dégraissé rectifié minimum (95) le chiffre minimum rectifié des cendres brutes ; il est facile de calculer cet extrait pour les différents taux de beurre ; il descend, par exemple à 95 — 7.49 = 87.51 pour un lait à 60 de beurre.

DÉSIGNATION ET DATE DE L'ANALYSE	AGE	Acidité lactique corrigée	Matière grasse	Lactose après hydrolyse	Alcool	Acide acétique	Acide butyrique	Lactose reconstitue	Caséine totale	Caséine du sérum	E D. R. déminéralisé	Mouillage	Observations
N — 13 janvier 22.	frais	»	49.4	»	»	»	»	48	34.3	»	87.46	»	Presque tous ces échantillons contenaient une très faible quantité d'acides volatils
N — 13 mars 22.....	2 mois	0.75	50.3	47.94	»	»	»	48.69	34.25	»	87.66	»	
— — 7 février 23.....	1 an et 25 jours	1.38	49.6	39.40	5.217	0.159	0.183	48.09	33.63	23.43	86.37	»	
— — 19 février 23.....	1 an, 1 m. et 7 j.	3	49.46	40	4.596	0.602	0.143	48.76	33.503	29.52	86.98	»	
5 % — 14 mars 22.....	2 mois	0.66	48.2	45.9	»	»	»	46.56	32.75	»	83.67	»	
— — 9 février 23.. ...	1 an et 27 jours	1.47	47.35	42.49	1.9875	»	»	45.09	32.11	24.60	81.32	»	
— — 22 février 23.....	1 an, 1 m. et 10 j.	0.93	47.27	41.82	2.981	»	»	45.74	31.955	27.55	81.91	»	
10 % — 15 mars 22.....	2 mois	0.57	45.1	43.35	»	»	»	43.92	29.25	»	76.93	»	
— — 12 février 23.....	1 an et 1 mois	6.6	44.48	21.42	7.453	0.261	2.638	42.81	30.16	19.86	76.72	»	
— — 26 février 23.....	1 an, 1 m. et 14 j.	1.20	»	32.18	6.210	»	»	43.03	»	»	»	»	
— — 27 février 23.....	1 an, 1 m. et 15 j.	1 47	44.51	30.6	6.956	»	»	43.17	30.12	23.85	77.05	»	
15 % — 16 mars 22.....	2 mois	0.345	42.4	40.2	»	»	»	40.56	28.6	»	72.129	»	
— — 15 février 23.....	1 an, 1 m. et 3 j.	1.875	42.28	34.98	2.73	»	»	40	28.83	20.03	72.16	»	
— — 1er mars 23.....	1 an, 1 m. et 17 j.	2.01	42.3	31.38	5.217	»	»	41.28	29.07	22.63	73.75	»	

Cet extrait dégraissé rectifié déminéralisé n'est autre que la somme « lactose hydraté + caséine » rectifiée.

Pour le lait à examiner, nous n'aurons donc qu'à additionner les chiffres de lactose hydraté et de matière azotée, puis rectifier la somme en raison du chiffre de beurre. Le résultat trouvé devra être au moins égal ou sensiblement égal à l'extrait dégraissé rectifié minimum déminéralisé, calculé pour le même taux de beurre. Nous regarderons comme suspect de mouillage tout lait dont la somme rectifiée « lactose hydraté + caséine » sera inférieure au minimum calculé. Une simple proportion donnera la valeur de ce mouillage.

Le résultat trouvé corroborera celui donné par la concentration moléculaire simplifiée pour révéler le mouillage et en donner la proportion, *si toutefois nous n'avons pas affaire à un lait mélangé de lait de chèvres.*

La méthode, telle qu'elle vient d'être décrite dans ses grandes lignes, a été appliquée aux laits tunisiens. Elle s'appliquerait de même aux laits de n'importe quelle autre région, la technique analytique restant la même ; il n'y aurait qu'à se conformer aux chiffres minima admis dans la région pour établir l'extrait dégraissé rectifié minimum déminéralisé, qui servirait de base à la recherche et au calcul du mouillage.

Nous ajouterons que le calcul du mouillage des laits au moyen de cet extrait déminéralisé nous a toujours donné des chiffres plus rapprochés de la vérité que la C. M. S., pour la raison déjà exposée.

CHAPITRE QUATRIÈME

TECHNIQUE DE LA MÉTHODE

1° Bien débarrasser de la cire adhérente le goulot de la bouteille, essuyer celle-ci, la peser pleine et bouchée, soit P son poids. Ne pas agiter autant que possible ;

2° Pour permettre la sortie des gaz comprimés à l'intérieur, traverser complètement le bouchon avec le tire-bouchon, l'extraire avec précaution et le mettre de côté pour la pesée ultérieure de la bouteille vide, sèche et munie de son bouchon, soit *p*. On pourra ainsi calculer le poids exact de l'échantillon (P-p) ;

3° Si le bloc de matière grasse obstrue le goulot, le détacher en passant entre lui et le verre une baguette effilée. Boucher avec un bon bouchon et renverser plusieurs fois la bouteille, en tenant le bouchon, pour obtenir l'homogénéité du lactosérum sans tenir compte du coagulum ;

4° Prendre la réaction du lait avec un papier de tournesol ;

5° Verser sur un filtre à plis (1) du lait coagulé et recueillir le lactosérum limpide dans un vase jaugé de la contenance *v* (suivant l'importance de l'échantillon, *v* sera égal à 100 ou 150 centimètres cubes, en général les 2/5 du volume V). Avoir soin de ne pas perdre de substance au cours de la manipulation ;

6° Quand le volume *v* est complet, mettre l'entonnoir et son filtre sur une éprouvette graduée, bouchant à l'émeri, d'une contenance égale à 2,5 V. Percer le filtre avec la baguette de verre effilée, laisser égoutter, puis rassembler le filtre et le jeter avec son contenu dans l'éprouvette graduée. Laver la baguette, puis l'entonnoir avec un fin jet de pissette au-dessus de l'éprouvette ;

7° Mettre dans la bouteille un volume *v* d'eau salée physiologique (NaCl à 7 p. 1000) (2), agiter, verser le tout dans l'éprouvette. Ajouter alors, par portions, un volume d'acide sulfurique de densité 1.825, égal à V, chaque portion servant à rincer la bouteille et à entraîner les derniers débris du coagulum. Agiter l'éprouvette avec précaution, lentement et par mouvements circulaires d'abord, puis par renversements, pour obtenir un mélange homogène. Le filtre disparaît entièrement. Laisser refroidir ;

(1) Prendre un filtre en papier de bonne qualité, ne contenant pas de matière azotée.

(2) L'addition d'eau salée physiologique sert à redonner à l'échantillon son volume et sa composition minérale approchée. Nous obtenons ainsi une meilleure séparation du benzène gras. Sans ce subterfuge, le benzène ne se sépare pas nettement dans la moitié des cas.

8° Ajouter un volume connu de benzine, exempte de thiophène, (100 cm³ pour V=250). Agiter pendant quelques minutes, puis laisser au repos jusqu'au lendemain, pour que le benzène surnageant soit bien limpide ;

9° *Beurre.* — Prendre 10 cm³ de la solution benzénique avec une pipette, les placer dans une capsule de verre tarée, laisser évaporer à la température du laboratoire, puis porter à l'étuve à 100° pendant une heure. Peser = b.

$$\frac{b \times 90}{9 - b}$$

sera le poids de beurre de l'échantillon total (P-p).

$$\frac{b \times 90}{9 - b} \times \frac{1033}{P - p}$$

sera le poids de beurre par litre de lait.

10° *Matière azotée totale.* — Noter le volume occupé dans l'éprouvette par le mélange acide, soit v'. Prendre de ce liquide 25 cm³, les placer dans un ballon de verre d'Iéna, y ajouter avec précaution 10 cm³ d'acide sulfurique pur et un globule de mercure. Chauffer, pour détruire la matière organique, jusqu'à décoloration complète. Laisser refroidir et doser l'azote par distillation dans l'appareil d'Aubin.

Soit a la quantité d'azote pour les 25 cm³ de prise d'essai

$$\frac{a \times v'}{25} = A$$

sera la quantité d'azote pour le liquide acide en entier (v'), c'est-à-dire pour l'échantillon total diminué des v cm³ de lactosérum.

11° D'autre part, prendre 10 cm³ du lactosérum mis de côté, les placer dans un ballon de verre d'Iéna avec 10 cm³ d'acide sulfurique pur et un globule de mercure ; détruire la matière organique, puis doser l'azote par distillation comme précédemment. Soit a' la quantité d'azote pour les 10 cm³ de lactosérum,

$$\frac{a' \times v}{10} \text{ ou } A'$$

sera la quantité d'azote pour tout le lactosérum mis à part (v) et l'on aura :

$A + A'$ = quantité d'azote pour l'échantillon total ;

$(A + A') \frac{1033}{P - p}$ = quantité d'azote pour un litre de lait ;

$(A + A') \frac{1033}{P - p} \times 6.39$ = matière azotée totale ou caséine totale pour un litre de lait.

12° *Acidité lactique.* — Sur 10 cm³ de lactosérum, titrer, *sans addition d'eau*, l'acidité totale, au moyen de la liqueur décinormale de soude, en présence de phénol-phtaléine. Un centimètre cube de soude N/10 correspond à 0,009 d'acide lactique.

Dans les laits un peu anciens, la coloration rose obtenue à froid disparaît rapidement en chauffant. Une petite quantité d'acide du lactosérum se trouve éthérifiée, vraisemblablement un peu d'acide lactique s'est transformé en acide lactyllactique, peut-être même en dilactide par éthérification mutuelle de deux molécules voisines. Il n'est pas inutile d'en tenir compte.

Verser, après l'obtention de la teinte rose, un léger excès connu de NaOH N/10, 2 ou 3 cm³, chauffer à l'ébullition, laisser refroidir ; le liquide, après refroidissement, doit être rouge. Ajouter 5 c.c. d'acide sulfurique N/10 qui le décolore, puis de la soude N/10 jusqu'à recoloration. Le chiffre total de NaOH N/10 en centimètres cubes, diminué de 5, représente la quantité nécessaire pour saturer les acides du lactosérum (1).

L'acidité lactique par litre, diminuée de 1.50, donne l'acidité lactique corrigée, chiffre qu'on ajoutera à celui du lactose hydraté.

13° *Lactose et chlorures.* — 20 cm³ du lactosérum sont placés dans un ballon jaugé de 200 cm³, avec 6 cm³ de solution de métaphosphate de soude à 5 % et 0 cm³ 6 d'acide acétique cristallisable, puis Q. S. d'eau pour faire 200 cm³. Agiter. Filtrer :

A. — Sur 10 ou 20 cm³ du filtrat, doser le lactose par réduction à l'aide de la liqueur cupropotassique (méthode de M. G. Bertrand). Calculer la proportion de lactose par litre de lactosérum.

B. — Sur 100 cm³ du même filtrat, doser les chlorures par la méthode Charpentier Volhardt, après séparation du chlorure d'argent formé. Calculer la proportion de chlorures en NaCl par litre de lactosérum ;

14° Pratiquer, sur 10 cm³ de lactosérum, l'hydrolyse totale indiquée par M. Hildt. Pour cela, placer les 10 cm³ dans une fiole jaugée de 100 cm³ avec 3 cm³ de métaphosphate de soude à 5 %, 60 à 70 c.c. d'eau et 1 cm³ d'acide sulfurique normal. Agiter. Ajouter 15 à 20 cm³ du catalyseur, compléter à 100 c.c., mélanger par agitation et filtrer après repos suffisant.

(1) En opérant ainsi nous avons obtenu des différences de 0 c.c.3 à 0 c.c.6 même 1 c.c. de NaOH N/10, ce qui représente jusqu'à 0 gr. 9 d'acide lactique par litre.

Prendre un tube présentant un étranglement (comme les tubes à cultures microbiennes sur pomme de terre), et sur cet étranglement un trait de jauge correspondant à un volume minimum de 20 cm³, que l'on n'a pas besoin de connaître ; y verser du liquide filtré jusqu'au trait de jauge ; munir le tube d'un bouchon dans lequel sera ménagée une petite rigole pour le passage des vapeurs ; plonger le tube dans un bain-marie bouillant et l'y laisser au minimum 8 heures consécutives. Puis le retirer du bain-marie, laisser refroidir, ramener le volume au trait de jauge avec de l'eau distillée et agiter pour le rendre homogène.

Sur 10 cm³ du liquide, doser les sucres par la liqueur cupropotassique ; le chiffre obtenu, calculé en sucre interverti, puis multiplié par 1,020, donnera la proportion de lactose inverti, par suite celle du lactose hydraté dont il provient, et qui lui correspond poids pour poids. On calculera le résultat au litre de lactosérum. On aura ainsi tout le lactose qui se trouvait à l'état lactose, glucose et galactose ;

15° *Alcool.* — Prendre, au minimum, 60 cent. cubes, 100 cm³ si possible, de lactosérum, les placer dans un ballon de 250 environ s'adaptant à un appareil à distiller. Y projeter un ou deux fragments de verre pour aider à l'ébullition. Distiller avec de grandes précautions, car la mousse est abondante, et recueillir, exactement, les trois quarts du volume primitif dans un ballon jaugé de cette dernière capacité (60 ou 100).

Compléter ce volume avec de l'eau distillée. On est alors en possession d'un liquide renfermant, sous le même volume que le lactosérum, tout l'alcool et une proportion connue des acides volatils de ce dernier. Nous appellerons ce liquide D_4 pour le reconnaître.

De ce distillat D_4 prendre, suivant le cas, 40 ou 50 centimètres cubes exactement mesurés, les placer dans un ballon de 150 s'adaptant au même appareil à distiller ; y ajouter une goutte de macération de tournesol sensible, puis de la soude N/10 jusqu'à teinte nettement bleue, soit n cm³. Ces n c.c. représentent les acides volatils contenus dans le volume de distillat mis en jeu (40 ou 50).

Le ballon contenant le liquide bleui est adapté à l'appareil à distiller. On distille et on recueille au minimum la moitié du volume (distillat (D_4 + NaOH N/10). Ce liquide, récolté dans un ballon de 100 c.c., s'adaptant aussi à l'appareil, sera distillé à son tour pour recueillir finalement un volume de liquide alcoolique égal à la moitié du volume de distillat D_4 et par suite à la moitié du lactosérum auquel il correspond, dans un petit ballon jaugé de 20 cm³ ou 25 cm³, suivant le cas.

Le liquide ainsi obtenu a un degré alcoolique double de celui du lactosérum. Ce degré sera pris au moyen de la pipette de Duclaux, non pas d'après une table, mais toujours par comparaison avec des liquides alcooliques de degrés 0°125, 0°250, 0°500, 0°750, 1°, etc., exposés depuis plusieurs heures à la température du laboratoire, à côté du liquide à essayer.

Il sera possible ainsi de juger, avec une grande exactitude, et sans tenir compte de la température, du degré du liquide. On peut même faire des interpolations.

Le degré alcoolique du lactosérum s'obtiendra en divisant par 2 le degré trouvé. Il n'y aura plus qu'à calculer la quantité de lactose correspondante ou mieux qu'à se reporter à la table ci-contre, suffisante dans presque tous les cas.

DEGRE ALCOOLIQUE du lactosérum	ALCOOL EN POIDS par litre	LACTOSE HYDRATÉ correspondant par litre
0°,0625.....	0,496875	0,9685
0°,125 ou 1/8.....	0,99375	1,937
0°,1875.....	1,490625	2,9055
0°,250 ou 1/4.....	1,9875	3,888
0°,3125	2,484375	4,8565
0°,375 ou 3/8.....	2,98125	5,830
0°,4375.....	3,478125	6,7985
0°,500 ou 1/2.....	3,975	7,776
0°,625	4,96875	9,713
0°,750 ou 3/4.....	5,9625	11,664
0°,875	6,95625	13,606
1°	7,950	15,552

16° *Acide butyrique.* — Prendre du distillat D_1 une nouvelle portion, 10 ou 20 cm³, les placer dans une capsule de platine tarée, avec de la solution de baryte titrée, bien limpide, en quantité exactement équivalente à la soude N/10 nécessaire pour la neutralisation. De cette façon, acides acétique et butyrique se trouvent juste saturés et transformés en sels de baryum. De plus, nous connaissons la quantité en poids de BaO ajoutée, appelons la *p*. La capsule est portée au bain-marie bouillant jusqu'à évaporation complète ; la dessiccation est achevée à l'étuve à 100° jusqu'à poids constant. Nous avons ainsi le poids global P des deux sels de baryum, acétate et butyrate.

Connaissant *p* et P, nous pouvons calculer les quantités de chaque acide existant dans la prise d'essai.

Soient *x* et *y* les quantités de baryte BaO combinées respectivement à l'acide acétique et à l'acide butyrique. Nous avons :

$$x + y = p \quad (1)$$

D'autre part, 153 de Ba O donnant 255 d'acétate de baryum ou 311 de butyrate de baryum, nous pouvons écrire :

$$\frac{255}{153} x + \frac{311}{153} y = P \ (2)$$

système d'équations qui se réduit à :

$$x + y = p \ (1)$$

$$255 x + 311 y = 153 P \ (2)$$

On résoudra en remplaçant p et P par les valeurs connues. Possédant x et y, il sera facile de calculer les quantités d'acides acétique et butyrique qui leur correspondent dans la prise d'essai, par suite dans le distillat D_1.

153 BaO correspondent à 120 d'acide acétique et 176 d'acide butyrique.

Lorsque nous avons distillé les trois quarts (75 p. 100) du volume du lactosérum, nous n'avons recueilli qu'en partie les acides acétique et butyrique. La première table de Duclaux, relative à la distillation fractionnée des acides volatils en solution aqueuse, nous indique que le distillat recueilli dans la proportion de 75 p. 100 (ou 82.5 p. 110) du liquide primitif, renferme 60 p. 100 de l'acide acétique et 91.525 p. 100 de l'acide butyrique de ce liquide. Notre distillat D_1 contenant les acides acétique et butyrique du lactosérum dans ces proportions respectives, il nous est facile de faire une correction.

Nous multiplions le chiffre d'acide acétique trouvé par $\frac{100}{60}$ ou 1,6667,

et celui d'acide butyrique par $\frac{100}{91,525}$ ou 1,0929.

Il n'y a plus ensuite qu'à calculer leur proportion par litre de lactosérum.

Pour éviter des calculs un peu longs, nous avons réuni en un tableau les facteurs de rectification ainsi que les valeurs de l'extrait dégraissé rectifié minimum déminéralisé pour les taux de beurre allant, de 10 en

10 grammes, entre 0 et 90. L'interpolation est facile à faire pour des taux intermédiaires.

TAUX DE BEURRE	FACTEUR de RECTIFICATION	EXTRAIT dégr réctif. démin minimum
0.....	1	88
10.....	1,010988	87,9231
20.....	1,022222	87,8445
30.....	1,033707	87,7641
40.....	1,045454	87,6819
50.....	1,057470	87,5978
60.....	1,069752	87,5117
70.....	1,082351	87,4236
80.....	1,095237	87,3334
90.....	1,108433	87,2410

Enfin, pour aller plus vite dans la correction des chiffres, quand il s'agit de passer du lactosérum au lait, nous avons élargi les limites du tableau de correction des volumes de l'Insoluble, de MM. Mathieu et Féré, en portant les taux de beurre à 90 et abaissant celui de la matière azotée jusqu'à 10 gr. par litre, chiffre minimum que nous avons trouvé comme insolubilisé dans nos échantillons. (Voir tableau page suivante).

Nota. — Quand l'échantillon à analyser est abondant, il n'y a aucune difficulté à recueillir une quantité largement suffisante de lactosérum pour les différents essais. Mais il peut arriver que le volume de l'échantillon soit restreint ; il est rare, toutefois, que l'on ne puisse recueillr 100 c.c. de lactosérum ; c'est un minimum indispensable pour opérer dans de bonnes conditions. Encore est-on obligé de pratiquer certains dosages sur des quantités réduites : lactose après hydrolyse sur 5 c.c. au lieu de 10 — lactose direct et chlorures sur 10 c.c. au lieu de 20. — Alcool et acides volatils, acide butyrique, sur 60 c.c. au lieu de 100.

CORRECTION DES VOLUMES DE L'INSOLUBLE

CASÉINE PAR LITRE	MATIÈRE GRASSE PAR LITRE																		CASÉINE PAR LITRE
	5	10	15	20	25	30	35	40	45	50	55	60	65	70	75	80	85	90	
45	1.040	1.046	1.0518	1.0577	1.0638	1.0698	1.0759	1.0821	1.0883	1.0948	1.1013	1.1076	1.1142	1.120	1.1276	1.1344	1.1412	1.1482	45
40	1.036	1.041	1.047	1.053	1.059	1.065	1.071	1.077	1.084	1.090	1 096	1.103	1.1096	1.1161	1.1229	1.1296	1.1365	1.1433	40
35	1 032	1.037	1.043	1.049	1.055	1.061	1.067	1.073	1 079	1.085	1.091	1.098	1 105	1.1116	1.1183	1.1249	1.1317	1.1374	35
30	1.029	1.033	1.039	1.045	1.051	1.057	1.063	1.069	1.075	1.080	1.087	1.094	1.1005	1.107	1.1137	1.1203	1.127	1.1337	30
25	1.025	1.029	1.035	1.041	1.047	1.053	1.059	1.065	1.071	1.077	1.083	1.089	1.0961	1.1025	1.1091	1.1156	1.1223	1.129	25
20	1.020	1.026	1.031	1.037	1.043	1.048	1.054	1.060	1.066	1.073	1.079	1.085	1.0917	1.098	1.1046	1.1111	1.1176	1.1243	20
15	1.0167	1.0222	1.0278	1.0334	1.0392	1.045	1.0508	1.0567	1 0627	1.0688	1.0749	1.081	1.0873	1.0936	1.0999	1.1065	1.113	1.1196	15
10	1.0129	1.0184	1.0239	1.0295	1.0353	1.041	1.0467	1.0526	1.0585	1.0645	1.0706	1.0767	1.0829	1.0892	1.0955	1.102	1.1085	1.115	10
	5	10	15	20	25	30	35	40	45	50	55	60	65	70	75	80	85	90	
	MATIÈRE GRASSE PAR LITRE																		

CHAPITRE CINQUIÈME

QUELQUES REMARQUES FAITES AU COURS DE CE TRAVAIL

Nous donnerons ici quelques remarques que nous avons eu l'occasion de faire, portant à la fois sur les laits coagulés et sur des laits moins anciens.

Remarque I. — *L'altération des échantillons de lait, étant fonction de la température, doit être plus rapide dans les pays chauds.* C'est ce que nous avons constaté à Tunis, en été. Nous avons eu à analyser des laits n'ayant pas plus de deux mois de conservation. L'un, au bout de 52 jours, présentait une forte proportion de lactose dédoublée (38,3 %) ; un autre, au bout de 57 jours, n'avait plus que 13.5 % de son lactose intact, sans que le bichromate soit réduit ; un troisième, au bout de deux mois, avait presque 6 grammes d'acidité lactique, 36 p. 100 de son lactose décomposé et 1 gr. 49 d'alcool éthylique par litre ; le bichromate était entièrement réduit.

Remarque II. — Certains auteurs ont émis l'opinion que l'acidité du lait tend vers une limite qu'ils ont arrêtée à 7 grammes pour 1000, limite pour laquelle les ferments lactiques perdraient leur activité. *A notre avis, cette limite n'existe pas.* En effet, nous avons trouvé nombre d'acidités lactiques dépassant le chiffre de 20 grammes dans des laits de 15 à 16 mois.

Dans un échantillon, pour lequel d'ailleurs nous avons reconstitué entièrement le lactose, nous avions, sur 40 grammes de lactose primitif, 15 gr. de lactose dosé après hydrolyse totale, 22,08 d'acidité lactique corrigée, dont 1,517 d'acide butyrique et 4,24 d'acide acétique, et, en plus, 1 gr. 49 d'alcool éthylique.

Nous avons obtenu jusqu'à 29 gr. d'acidité lactique corrigée dans un lait à 50 grammes de lactose. Ce chiffre 29 grammes peut paraître invraisemblable. Il comporte 1,66 d'acide butyrique, 3 gr. 06 d'acide acétique, et 23 grammes d'acide lactique. A côté de ces acides nous avons trouvé plus de 6 grammes d'alcool éthylique. Nous pourrions en citer encore.

Ces chiffres très élevés d'acidité lactique indiquent la transformation d'une très notable partie du lactose. Il n'y a pas de raison pour que cette transformation ait une limite. Tout le lactose doit pouvoir se dédoubler.

Il y a plus, les produits de dédoublement du lactose doivent eux-mêmes pouvoir se transformer intégralement en produits plus simples. On ne retrouverait plus alors de sucres réducteurs. Nous avons constaté un cas où le sucre avait presque totalement disparu. La réduction de la liqueur cupropotassique par des quantités de liquide de 10 et 50 c.c. (1 et 5 gram-

mes de lait) nous a donné chaque fois un précipité infime d'oxydule de cuivre correspondant à moins de 1 gramme de lactose par litre.

Il est donc vraisemblable, d'après ce qui précède, que la décomposition du lactose peut se poursuivre, *avec le temps*, jusqu'à disparition totale de ce sucre. Il n'y aurait plus alors dans l'échantillon que des acides : lactique, acétique et butyrique, de l'alcool, et un mélange de glucose et de galactose en proportions très inégales, suivant que l'un des deux a trouvé à se transformer plus vite que l'autre à la faveur de microorganismes appropriés, ces sucres pouvant aussi disparaître complètement.

Le terme final de l'altération du lactose serait alors marqué par la présence des acides : lactique, acétique et butyrique et de l'alcool éthylique, et par l'absence de sucre réducteur.

Nous sommes bien loin de la limite de 7 pour 1000 d'acide lactique !

Remarque III. — L'inversion du lactose paraît se faire rapidement dans le lait bichromaté, et *d'autant plus rapidement que le lait est mouillé.* C'est ainsi que généralement, pour des essais pratiqués à des époques très rapprochées, un lait mouillé nous a donné une proportion de lactose dédoublé supérieure à celle donnée par le lait normal correspondant (lait de comparaison), et cela jusqu'à un âge avancé. (Voir tableau page 63).

Un lait normal âgé de 42 jours avait 12,7 p. 100 de son lactose transformé, tandis que le même lait, mouillé à 11 p. 100, âgé de 52 jours, en avait déjà 38,3 p. 100 et 81,2 p. 100 à l'âge de 5 mois et 6 jours.

Un autre lait normal, âgé de 58 jours, avait 36,1 p. 100 de son lactose décomposé, le lait mouillé à 9 p. 100 correspondant, âgé de 57 jours, en avait 86,5 p. 100.

Enfin, un lait normal de 15 mois et 17 jours avait encore 68,3 p. 100 de son lactose intact, tandis que le même lait, mouillé à 10 p. 100, âgé de 16 mois et 5 jours, n'en avait plus que 28,2 p. 100, chiffre qui était encore, 6 mois auparavant, de 35,7 p. 100.

D'après la remarque précédente, tous les laits, mouillés ou non, peuvent, avec le temps, arriver à la décomposition totale de leur lactose ; *les laits mouillés arriveraient à ce terme plus rapidement que les laits normaux.*

Remarque IV. — Il est admis que l'acide lactique est un agent de la coagulation des échantillons de lait bichromaté ; *mais il n'est pas le seul.* Nous en avons eu la preuve en analysant un lait vieux de 5 mois et 6 jours, parfaitement coagulé. (Ce lait se trouve dans le tableau suivant sous le numéro 1942). A notre grande surprise, son acidité totale n'atteignait pas 1 gramme par litre en acide lactique. Le lactose y était toutefois fortement dédoublé, puisque 18,8 p. 100 seulement restaient intacts et près de 3 grammes étaient transformés en alcool éthylique.

Dans le cas actuel, il n'y a pas eu formation d'acide lactique, ce n'est donc pas lui qui a pu coaguler l'échantillon.

DÉSIGNATION DES LAITS	Lactose en acide lactique	Lactose hydraté vrai	Lactose inverti	Somme des deux	Lactose en alcool	Lactose total	Lactose intact °/₀ du total	Lactose dédoublé °/₀ du total	AGE	DATE DE L'ANALYSE
219 (N)	2.28	42.33	3.86	46.19	»	48.47	87.3	12.7	42 jours	9 juin 21
194¹ (11 °/₀)	2.10	25.46	13.67	39.13	»	41.23	61.7	38.3	52 jours	5 juin 21
194² (11 °/₀)	0	7.71	32 22	39.93	2.915	41.2	18.8	81.2	5 mois et 6 jours	19 septembre 21
384 (N)	3.54	31.81	14.42	46.23	»	49.77	63.9	36.1	58 jours	9 décembre 21
383 (9 °/₀)	2.82	6.02	35.60	41.62	»	44.45	13 5	86.5	57 jours	7 décembre 21
122 (N)	15.15	32.9	0.7	33.60	1.937	48.14	68.3	31.7	15 mois et 17 jours	20 octobre 21
90¹ (10 °/₀)	14.25	15.33	15.87	31.20	»	42.87	35.7	64.3	10 mois et 8 jours	13 mai 21
90² (10 °/₀)	15.15	12.2	14.5	26.70	3.888	43.23	28.2	71.8	16 mois et 5 jours	17 octobre 21

Enfin, nous n'avons pas eu l'occasion de rencontrer d'échantillons de lait à réaction alcaline. C'est pourquoi nous n'en avons pas parlé.

Par contre nous pouvons assurer que tout lait coagulé, à réaction acide, est susceptible de donner un excellent résultat d'analyse, si le flacon qui le contient est demeuré bien clos.

Bien mieux, nous avons eu l'occasion d'examiner quelques échantillons dont les bouchons s'étaient soulevés sous la pression des gaz de fermentation, et avaient laissé suinter une bonne partie de la matière grasse à demi-liquéfiée en raison de la température ambiante. (N^{os} 183^{2}, 252 et 252^{2}, page 49). Pour ces laits nous avons pu reconstituer tout aussi bien le lactose, ce qui nous a donné un élément d'appréciation du mouillage. Nous ne pouvions plus songer à y doser la matière grasse.

CONCLUSION

Nous avons fait ressortir par quelques remarques les déductions intéressantes qui pouvaient être tirées de nos résultats.

Nous avons pu constater :

Que deux échantillons du même lait, prélevés le même jour, ne présentent pas la même composition actuelle au bout d'un certain temps de conservation ;

Que, sous des influences très diverses, l'altération du lactose s'est faite plus rapidement dans l'un que dans l'autre ;

Que toutefois, dans les deux cas, on retrouve les mêmes produits de décompositon, dans des proportions fort différentes, il est vrai ;

Enfin, qu'en dépit de la marche différente de l'altération, le dosage des produits qui en résultent et l'interprétation des chiffres trouvés permettent de *reconstituer la même quantité de lactose primitif pour les deux échantillons ;*

Et nous croyons pouvoir affirmer que les altérations du lait sont exactement les mêmes en présence et en l'absence du bichromate, ce dernier ne pouvant que les retarder de façon très variable, parfois même bien insuffisante, suivant la saison.

Vu :
Le Président de Thèse :
L. MAILLARD.

Vu :
Le Doyen :
J. HERAIL

Vu et permis d'imprimer .

Alger, 10 avril 1923,

Le Recteur,
C. ARDAILLON

INDEX BIBLIOGRAPHIQUE

ANDOYER G. — Détermination du mouillage et de l'écrémage sur des échantillons de lait altérés. — (*C. R. Ac. Sc.*, Paris, t. 173, p. 588-589 — *10 octobre 1921*).

BORDAS F. et TOUPLAIN F. — *Laiterie.* — Paris, Béranger, *1913* (p. 68-74. — Décret du 31 juillet 1906 — Prélèvement des échantillons).

BORDAS F. et TOUPLAIN F. — *Laiterie.* — Paris, Béranger, *1913* (p. 74-78. — Conservation des échantillons pour l'analyse).

BRUNO A. — *Note* (*Ann. Falsific.*, t. 2, p. 263 — *Juin 1909*).

DEFRANCE P. — Les normes des laits de Montpellier. — Appendice : Quelques observations sur l'analyse des laits conservés par addition de bichromate de potassium. (*Thèse Pharmacie*, Montpellier. — *Juillet 1908*, p. 36-41).

DENIGÈS G. — La Conservation des échantillons de lait destinés à l'analyse. (*Ann. Falsif.*, t. 5, p. 559-561 — *Décembre 1912*).

DUBOIS A. — Sur l'Analyse et la Conservation des échantillons de lait prélevés pour les expertises légales. (*Thèse Pharmacie*, Bordeaux — *Juillet 1900*, p. 24-35).

DUBOSC L. — L'Analyse des lait altérés. — (*Ann. Falsif.*, t. 6, p. 452-454 — *Août 1913*).

DUCLAUX E. — *Traité de Microbiologie.* Paris, Masson, *1900*, t. 3, p. 6-9. — Recherche de quantités très petites d'alcool.

DUCLAUX E. — *Traité de Microbiologie*, Paris, Masson, *1900*, t. 3, p. 384-395. — Dosage des acides volatils.

FONZES-DIACON. — La Constante moléculaire simplifiée dans l'analyse des laits coagulés. (*Ann. Falsif. et Fr.*, t. 12, p. 202-203 — *Juillet-Août 1919*).

GARNIER L. — Influence du bichromate de potassium sur certains éléments analytiques du lait. (*Journ. Phie et Chie*, 7e série, t. 3, p. 55-59 — *16 janvier 1911*).

GASCARD A. — Action de la lumière sur le lait additionné de bichromate de potassium. (*C. R. Ac. Sc.*, Paris, t. 148e, p. 580-582 — *1er mars 1909*).

GASCARD A. — L'Analyse des laits altérés. (*Ann. Falsif.*, t. 6, p. 525-530 — *Octobre 1913*).

GRÉLOT P. — Inconvénients du bichromate de potassium pour la conservation du lait aux fins d'analyse. (*Journ. Phie et Chie*, 6e série, t. 25, p. 369-373 — *16 avril 1907*).

HILDT E. — Dosage du lactose dans les laits altérés. (*Ann. Falsif. et Fr.*, t. 13, p. 21-25 — *Janvier-Février 1920*).

Hinard G. — L'altération des laits bichromatés. (*Ann. Falsif.* t. 6. p. 233-237 — *Avril 1913*).

Hinard G. — Composition et Analyse des laits conservés par le bichromate. (*Ann. Falsif. et Fr.*, t. 13, p. 463-474 — *Août-Septembre 1920*).

Kling A. — L'Analyse des laits altérés. (*Ann. Falsif.*, t. 4, p. 636-638 — *Décembre 1911*).

Kling A. et Roy P. — L'Analyse des laits altérés. (*Ann Falsif.*, t. 2, p. 257-263 — *Juin 1909*).

Kling A., Gelin et Lassieur A. — Recherches sur l'altération des laits bichromatés. (*Ann. Falsif.*, t. 7, p. 244-250 — *Mai 1914*).

Le Grand L. — Dosage du lactose en présence d'autres sucres réducteurs. — Application aux laits altérés et aux laits condensés sucrés. (*Ann. Falsif et Fr.*, t. 14, p. 132-136 et 268-269 — *Mai et Juillet-Août 1921*).

Magnier de la Source L. — Observations sur la valeur du procédé officiel de conservation du lait au moyen du bichromate de potassium. (*Ann. Ch^ie Anal.*, t. 2, p. 242-245 — *Août 1920*).

Marchadier et Goujon. — Sur l'oxydation du lactose et de l'acide lactique et son influence sur les résultats analytiques des laits conservés par le bichromate de potassium. (*Ann. Ch. Anal.*, t. 1, p. 288-290 — *Septembre 1919*).

Rocques X. — La Conservation des échantillons de lait destinés à l'analyse. (*Ann. Falsif.*, t. 5, p. 338-342 — *Juillet 1912*).

Ronnet L. — Analyse des laits altérés. (*Ann. Falsif.*, t. 4, p. 557-561 — *Novembre 1911*).

Ronnet L. — L'Analyse des laits altérés. (*Ann. Falsif.*, t. 5, p. 45-46 — *Janvier 1912*).

Thorpe Th. Edw. — L'Analyse des échantillons de lait adressés aux laboratoires d'Etat, en exécution des lois sur la vente des produits alimentaires et des médicaments — Traduction de M. Fabre H. — (*Ann. Falsif.*, t. 2, p. 60-76 — *Février 1909*).

Villiers A. et Collin Eug. — *Traité des Altérations et Falsifications des Substances alimentaires.* — Paris, Doin, *1900* (p. 578 — Lait — Conservation des échantillons).

Vindisch. — La Conservation des échantillons de lait destinés à l'analyse. (*Ann. Falsif.*, t. 2, p. 91 — *Février 1909*).

Vuaflart L. — L'Analyse des laits altérés. (*Ann. Falsif.*, t. 6, p. 148-149 — *Mars 1913*).

TABLE DES MATIÈRES

Pages

AVANT-PROPOS 9

INTRODUCTION 11

CHAPITRE PREMIER. — *Exposé des Méthodes d'analyses des laits altérés* 17
Méthode de M. Dubois A..... 17
Méthode des Laboratoires d'Etat anglais : M. Thorpe Th. Edw..... 18
Méthode de MM. Kling A. et Roy P..... 25
Méthode de M. Ronnet L..... 27
Méthode de M. Dubosc L..... 30
Méthode de M. Gascard A..... 31
La Constante moléculaire simplifiée dans l'analyse des laits coagulés, de M. Fonzes-Diacon 33
Dosage du lactose dans les laits altérés, de M. Hildt E. 34
Application aux laits altérés du dosage du lactose en présence d'autres sucres réducteurs, de M. Le Grand L..... 36
Méthode de M. Andoyer G..... 38

CHAPITRE DEUXIÈME. — *Quelques appréciations sur les méthodes exposées. — Nécessité d'une méthode plus complète* 40

CHAPITRE TROISIÈME. — *Etablissement de la méthode*..... 44
Principe de la méthode..... 44
Expérimentation et développement de la méthode 45
Interprétation des résultats..... 50

CHAPITRE QUATRIÈME. — *Technique de la méthode*..... 53
Dosage du beurre..... 54
Dosage de la matière azotée totale..... 54
Dosage de l'acidité lactique..... 55
Dosage du lactose..... 55
Dosage des chlorures..... 55
Dosage de l'alcool..... 56
Dosage de l'acide butyrique..... 57

Pages

CHAPITRE CINQUIÈME. — *Quelques remarques faites au cours de ce travail* 61

CONCLUSION 64

BIBLIOGRAPHIE 65